

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacia Galénica, Farmacotécnica y Biofarmacia



TESIS DOCTORAL

**Análisis de las respuestas inducidas por agentes vasoactivos
y estimulación eléctrica en la arteria comunicante posterior
y femoral del gato**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Mercedes Salaices Sánchez

DIRECTOR:

Jesús Marín López

Madrid, 2015

7P
1985
096

Mercedes Salaices Sánchez



X-52-114195-5

ANÁLISIS DE LAS RESPUESTAS INDUCIDAS POR DIFERENTES
AGENTES VASOACTIVOS Y ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN LAS ARTERIAS
COMUNICANTES POSTERIOR Y FEMORAL DE GATO

Departamento de Farmacia Galénica
Facultad de Farmacia
Universidad Complutense de Madrid
1985



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº

6/85

© Mercedes Salaices Sánchez
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 28015 Madrid
Madrid, 1985
Xerox 9400 X 721
Depósito Legal: N-43716-1984

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

ANALISIS DE LAS RESPUESTAS INDUCIDAS POR DIFERENTES AGENTES
VASOACTIVOS Y ESTIMULACION ELECTRICA EN LAS ARTERIAS COMUNI-
CANTE POSTERIOR Y FEMORAL DE GATO.

T E S I S

Que para optar el Grado de Doctor en Farmacia presenta:

MERCEDES SALAICES SANCHEZ

Madrid, 1980

JESUS MARIN LOPEZ, Profesor Adjunto del Departamento de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid,

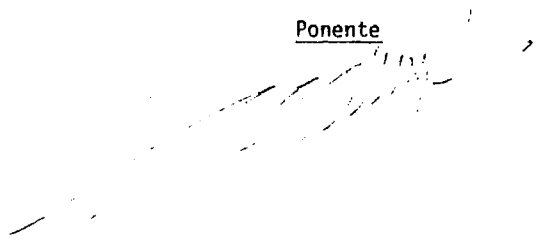
C E R T I F I C A: Que MERCEDES SALAICES SANCHEZ, ha realizado bajo su dirección, el presente trabajo: "ANALISIS DE LAS RESPUESTAS INDUCIDAS POR DIFERENTES AGENTES VASOACTIVOS Y ESTIMULACION ELECTRICA EN LAS ARTERIAS COMUNICANTE POSTERIOR Y FEMORAL DE GATO", como Tesis para alcanzar el grado de Doctor en Farmacia.

Madrid, treinta de Julio de mil novecientos ochenta.

Director



Ponente



A mis padres.

A mi esposo.

A mis hijos.

Este trabajo ha sido subvencionado con una Beca de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Educación y Ciencia así como con Ayudas de Investigación de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica de la Presidencia del Gobierno y del Instituto Nacional de Previsión.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. J. Marín director de este trabajo, le agradezco su orientación y estímulo constante, ya que sin su ayuda y consejo no hubiera llegado a ser una realidad.

Al Dr. P. Sánchez García, Catedrático-Director del Departamento de Farmacología y Terapéutica, le agradezco la ayuda prestada en la corrección de esta Tesis.

También quiero manifestar mi agradecimiento a los Doctores: E. Marco, M.V. Conde, M. Arias y M. López, por su colaboración en la realización de algunos experimentos.

A la Srta. Natividad Tera, le agradezco su ayuda en la confección mecanográfica del trabajo.

A todos los miembros de los Departamentos de Farmacología y Terapéutica y de Fisiología de esta Facultad, la ayuda que de alguna forma me han brindado.

Al Dr. Cadórniga, Catedrático de Farmacia Galénica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, le agradezco su amabilidad y deferencia al aceptar ser ponente de esta Tesis Doctoral.

I N D I C E

	<u>Páginas</u>
I. INTRODUCCION	1 - 32
II. PLAN DE TRABAJO	33 - 36
III. MATERIAL Y METODOS.....	37 - 54
IV. RESULTADOS	55 - 125
A) ARTERIA COMUNICANTE POSTERIOR DE GATO	55
1. Curvas dosis-respuesta a noradrenalina	55
2. Curvas dosis-respuesta a isoproterenol	56
3. Curvas dosis-respuesta a acetilcolina	57
4. Curvas dosis-respuesta a serotonina (5-hi droxitriptamina, 5-HT)	58
5. Curvas dosis-respuesta a histamina	59
6. Curvas dosis-respuesta a dopamina	60
7. Curvas dosis-respuesta a tiramina	61
8. Estimulación eléctrica de campo. Curvas frecuencia-respuesta	62
9. Curvas dosis-respuesta a cloruro potásico .	65
B) ARTERIA FEMORAL DE GATO	87
1. Curvas dosis-respuesta a noradrenalina	87
2. Curvas dosis-respuesta a isoproterenol	87

	<u>Páginas</u>
3. Curvas dosis-respuesta a acetilcolina	88
4. Curvas dosis-respuesta a serotonina	89
5. Curvas dosis-respuesta a histamina	90
6. Curvas dosis-respuesta a dopamina	91
7. Curvas dosis-respuesta a tiramina	92
8. Estimulación eléctrica de campo. Curvas frecuencia-respuesta	93
9. Curvas dosis-respuesta a cloruro potásico .	95
C) CONTENIDO DE NORADRENALINA EN ARTERIAS PIALES Y FEMORALES DE GATOS CONTROLES Y RESERPINIZADOS	96
V. DISCUSION	127 - 161
VI. CONCLUSIONES	162 - 165
VII. BIBLIOGRAFIA.....	166 - 204

INTRODUCCION

La circulación cerebral constituye uno de los hechos vasculares inaccesibles para el estudio de los mecanismos que la regulan. La creencia general, hasta hace poco tiempo aceptada, de la falta de reactividad de los vasos cerebrales a fármacos o a estímulos nerviosos se ha debilitado en los últimos años. A ello han contribuido dos hechos fundamentales: 1) La evidencia de fibras nerviosas adrenérgicas y colinérgicas en las paredes de los vasos cerebrales (Falck y col., 1965; Nelson y Rennels, 1970; Dahl, 1973) y 2) El número creciente de observaciones experimentales que apuntan hacia el posible papel funcional de estas fibras nerviosas (James y col., 1969; D'Alecy, 1973; Lluch y col., 1975; Alborch y col., 1977).

Es sorprendente el hecho de que el interés por los mecanismos receptores de un sistema tan complejo y debatido como la circulación cerebral no haya sido objeto de estudio hasta hace solo unos pocos años. Quizá esto haya sido el resultado de los primeros fracasos en el intento de obtener respuestas contráctiles en vasos cerebrales aislados (Bohr y col.,

1961) o de evidenciar efectos vasomotores producidos por determinados fármacos en el animal anestesiado (Green y Denison, 1956; Meyer y col., 1964).

El músculo liso vascular posee terminaciones nerviosas de las que se liberan los neurotransmisores que relacionan ambas estructuras (Hubbard, 1970; Hall, 1972). Los neurotransmisores están almacenados en vesículas situadas en las terminaciones nerviosas de las cuales se secretan cuando les alcanza un estímulo, vertiendo su contenido al exterior (Chubb y col., 1970; Hubbard, 1970; Smith, 1972; Hall, 1972). El transmisor actúa sobre las células efectoras interaccionando con componentes celulares especiales, llamados receptores farmacológicos, desencadenando así una secuencia de sucesos que culminan con la producción del efecto farmacológico correspondiente (Burgen, 1970; Triggle, 1972). Tanto la naturaleza de la interacción neurotransmisor-receptor, como la estructura de este último, tan solo es conocido en contados casos (O'Brien y col., 1972; Olsen y col., 1972). Atendiendo a la clase de agonista con el que se unen, los receptores se clasifican en adrenérgicos, colinérgicos, triptaminérgicos, etc.

En esta introducción se hará una revisión del estado del conocimiento actual acerca de los efectos producidos por diferentes agentes vasoactivos, y la estimulación eléctrica, fundamentalmente en vasos cerebrales, analizando las analogías y diferencias con los periféricos. Con el fin de completar este estudio, se analizarán previamente los diferentes sistemas de inervación de estas arterias (adrenérgico y colinérgico principalmente) por el hecho de que la presencia de estas fibras presupone la existencia de unos receptores en donde pueden actuar los neurotransmisores liberados, para así ejercer efectos vasomotores.

INERVACION DE LOS VASOS CEREBRALES Y PERIFERICOS

La existencia de fibras nerviosas en las arterias cerebrales fue demostrada por primera vez por Willis en 1664. Esta observación ha sido comprobada por otros investigadores como veremos más adelante. A pesar de estos hechos ha existido hasta no hace mucho tiempo una opinión generalizada de que el control del flujo sanguíneo cerebral se ejerce únicamente a través de factores químicos y metabólicos (Betz, 1972; Purves, 1972). En el desarrollo de esta concepción han contribuido varios fac-

tores entre los cuales destaca el hecho de que los estudios histológicos iniciales utilizaron la técnica de impregnación con plata poco específica e incapaz de diferenciar si las fibras detectadas eran motoras o sensoriales, simpáticas o parasimpáticas. Incluso algunos trabajos pioneros con el microscopio electrónico (Pease y Molinari, 1960; Samarasinghe, 1965) mostraron que las arterias y arteriolas extracerebrales e intracerebrales no recibían inervación nerviosa de ningún tipo y si algún terminal axónico podía demostrarse no pasaba a la media desde la adventicia lo que les indujo a pensar que esta inervación no tenía papel funcional. Mas tarde con la aparición de las modernas técnicas histoquímicas (Björklund y col., 1972) se ha podido precisar el tipo de fibras nerviosas que presentan y llegan a los vasos cerebrales.

Dedicándonos en primer lugar a la inervación simpática, se ha observado con técnicas histofluorescentes que las arterias cerebrales de diferentes especies animales, tales como rata (Bertler y col., 1966; Iwayama, 1970; Iwayama y col., 1970; Csillik y col., 1971), gato (Nielsen y Owman, 1967; Edvinsson y col., 1972a), conejo (Falck y col., 1965; Peerless y Yasargil, 1971; Sercombe y col., 1975), perro (Borodulya y Pletchkova,

1973), mono (Hernández-Pérez y Stone, 1974) e incluso el hombre (Edvinsson y col., 1976) reciben una extensa inervación simpática. Estas técnicas histofluorescentes han revelado que la organización de la inervación simpática en las arterias cerebrales es similar a otros lechos vasculares (Edvinsson y Mackenzie, 1976). Además de estudios de tipo morfológico hay otros de tipo fisiológico, farmacológico y bioquímico que corroboran la existencia de inervación simpática en los vasos cerebrales.

El microscopio electrónico ha revelado que la red nerviosa adrenérgica de los vasos sanguíneos esta localizada en el borde adventiciomedial (Nelson y Rennels, 1970; Dahl, 1973; Bevan y col., 1974) y usualmente las arterias presentan mayor inervación que las venas (Edvinsson y Meckenzie, 1976).

Se ha comprobado que la inervación simpática de los vasos cerebrales se origina en los ganglios simpáticos cervicales superiores puesto que tras su extirpación desaparece su fluorescencia específica (Nielsen y Owman, 1967; Iwayama, 1970; Edvinsson y col., 1975; Sercombe y col., 1975), disminuye el contenido de catecolaminas de los vasos cerebrales (Edvinsson y col., 1972c; Conde y col., 1978; Marín y col., 1980), disminuye la actividad de dopamina beta-hidroxilasa (Marín y col., 1980) y la resistencia del sistema arterial cerebral con el consiguiente aumento del flujo sanguíneo cerebral (Lluch y col., 1975;

Alborch y col., 1977) así como decrece el efecto de la tiramina sobre dicho flujo sanguíneo (Lluch y col., 1975; Alborch y col., 1977).

Aparte de la inervación originaria de los ganglios simpáticos cervicales, otros investigadores han sugerido que el sistema noradrenérgico central puede inervar directamente los vasos cerebrales y por tanto controlar y modular el flujo sanguíneo cerebral (Hartman y col., 1972). Se ha supuesto que esta inervación adrenérgica proviene del locus coeruleus (Hartman y Udenfriend, 1970; Hartman y col., 1972). Sin embargo, otros investigadores suponen que otros núcleos cerebrales pueden participar en la inervación de las arterias cerebrales (Ungerstedt, 1971).

Por otra parte, es conocido que las arterias periféricas tienen una inervación simpática que normalmente proviene del ganglio simpático más próximo a su ubicación. Con respecto a la densidad de inervación, Roseblum (1976a) no encontró diferencias entre arterias cerebrales y femoral de rata. Tampoco Toda y col. (1978), ni Shibata (1977) las encontraron en el contenido de noradrenalina y en la actividad de dopamina beta-hidroxilasa, respectivamente, entre arterias cerebrales y mesentéricas de perro.

El sistema colinérgico de los vasos cerebrales ha sido menos estudiado que el adrenérgico, debido por un lado a que su situación anatómica le hace prácticamente inaccesible y por otro a que las técnicas histoquímicas de tinción son más difíciles y menos específicas que las utilizadas para las fibras adrenérgicas (Purves, 1978). Sin embargo, a pesar de estas dificultades técnicas, la existencia de fibras nerviosas colinérgicas con sus vesículas típicas ha sido demostrada en los vasos cerebrales, con técnicas histoquímicas (Edvinsson y col., 1972a; Owman y Edvinsson, 1974; Denn y Stone, 1976) y en estudios de microscopía electrónica (Iwayama y col., 1970; Nelson y Rennels, 1970; Nielsen y Owman, 1971; Edvinsson y col., 1972a). Todos estos hallazgos morfológicos se refieren a las arterias cerebrales extraparenquimatosas, puesto que ni el microscopio electrónico (Lindvall y col., 1975), ni las técnicas histoquímicas (Owman y col., 1974; Edvinsson, 1975), han mostrado la presencia de fibras y terminaciones colinérgicas en las arterias intraparenquimatosas.

El origen y trayecto de esta innervación colinérgica es todavía desconocido. Parece que las fibras colinérgicas se originan en el sistema parasimpático, ya que no se modifican después de la gangliectomía cervical superior (Iwayama y col.,

1970; Edvinsson y col., 1972a; Denn y Stone, 1976). Hasta hace poco tiempo se afirmaba que el único origen de estas fibras era el tronco del encéfalo. De allí las fibras seguían, por el nervio facial, al ganglio geniculado para hacer sinapsis y continuar a lo largo del nervio petroso superficial mayor al plexo de la arteria carótida y a los vasos cerebrales (Chorobski y Penfield, 1932; Cobb y Finesinger, 1932). Sin embargo, estudios recientes han mostrado que la sección unilateral o bilateral del nervio petroso (Vazquez y Purves, 1979) no afectan en gran manera a los plexos de los vasos cerebrales que se tiñen con la técnica de la colinesterasa. Estos resultados indican que la contribución del nervio petroso en esta inervación es pequeña y además sugiere que debe existir otra u otras estructuras donde se originen estas fibras colinérgicas, que siguen un trayecto todavía desconocido, hasta alcanzar los vasos cerebrales.

Un hecho muy interesante observado recientemente con el microscopio electrónico, es que la extensión y distribución de las fibras colinérgicas es similar a las adrenérgicas (Edvinsson y col., 1972a; Edvinsson, 1975), comprobándose que los dos sistemas van juntos, estando envueltos por la vaina de la misma célula de Schwann. Además las terminaciones adrenérgicas y colinérgicas están muy próximas una a la otra encontrándose separadas solamente por una distancia de 25 nm. Esta disposición morfológica

sugiere la posibilidad de una interacción funcional entre los dos sistemas de terminaciones nerviosas (Nielsen y col., 1971; Edvinsson y col., 1972a; Edvinsson, 1975). Sin embargo, no ha sido descrita ninguna especialización en la membrana que permita indicar, a priori, la dirección y naturaleza de esta interacción.

Aunque está ampliamente demostrada la existencia de receptores colinérgicos en los vasos periféricos (Lowe y Gilboe, 1973; Spira y col., 1976; Toda, 1979), sin embargo parece ser que estos tejidos carecen de innervación colinérgica (Bevan y Su, 1964; Milnor, 1974).

Además de la innervación simpática y parasimpática, se ha observado utilizando técnicas autorradiográficas, la existencia de plexos serotoninérgicos alrededor de los vasos cerebrales (Chan-Palay, 1976). También determinaciones bioquímicas han detectado la presencia de serotonina en estos vasos (Moskowitz y col., 1978). Estos hechos han inducido a pensar que esta amina podría estar implicada en el mantenimiento del tono vascular y por consiguiente en el flujo sanguíneo cerebral. Fibras y terminaciones serotoninérgicas están presentes en la adventicia y en el borde adventicio medial de los grandes vasos cerebrales sobre los que puede tener un efecto directo en las células del músculo liso, y por tanto influencia vasomotora local (Chan-Palay, 1977).

Se ha supuesto que la serotonina puede liberarse por cualquier estímulo, tal como alteración del pH local o cambios en la composición de la sangre circulante. También, se ha observado que las terminaciones nerviosas serotoninérgicas están próximas a las adrenérgicas, colinérgicas y peptidérgicas, y por tanto, con grandes probabilidades de interrelación entre ellas. El origen de las fibras serotoninérgicas no está claramente demostrado aunque parece provenir, al menos en parte del rafe (Chan-Palay, 1976). En efecto, Reinhard y col. (1979) han comprobado que la concentración de serotonina, en vasos cerebrales intraparenquimatosos, disminuía cuando destruían el rafe. Por otra parte Jarrot y col. (1975) y Berkowitz y col. (1975) comprobaron la existencia de serotonina en vasos periféricos de rata y supusieron que debía tener alguna influencia en el mantenimiento del tono vascular.

Se ha demostrado con técnicas inmunohistoquímicas la existencia de fibras de tipo peptidérgico (que contienen sustancia P) cuyo origen es por ahora desconocido, aunque se supone que estará ubicado en algún núcleo intracerebral. Las terminaciones de estas fibras se han encontrado en la adventicia y en el borde adventicio medial (Owman y Edvinsson, 1977; Chan-Palay, 1977). No sabemos la importancia de esta inervación en el control del flujo sanguíneo cerebral, aunque parece ser que la sustancia

P es un potente agente hipotensor y vasodilatador (Owman y Edvinsson, 1977). La existencia de fibras contenido sustancia P, también se ha demostrado en el tejido conectivo que rodea los vasos sanguíneos de la pata posterior de gato (Hököfelt y col., 1975).

Por último, añadiremos que también han sido descritos otros sistemas como el histaminérgico, dopaminérgico, etc. Debido a que estas observaciones pueden considerarse como preliminares, no vamos a entrar en su análisis.

En resumen de todo lo anteriormente expuesto, se puede inferir la existencia de cuatro diferentes tipos de fibras alrededor de los vasos que contienen cuatro neurotransmisores diferentes: noradrenalina, acetilcolina, serotonina y sustancia P. Las terminaciones de estas fibras, están bastante próximas en el vaso con lo que es probable la existencia de interacciones entre ellas, pudiéndose sugerir que todos estos neurotransmisores pueden tener un papel en la modulación de las funciones vasomotoras tanto a nivel central como periférico.

EFFECTO DE LAS AMINAS Y LA ESTIMULACION SIMPATICA EN LAS ARTERIAS CEREBRALES Y PERIFERICAS

Para analizar el efecto de las aminas a nivel vascular cerebral, se han utilizado técnicas in vivo e in vitro. El estudio in vivo es un tanto complejo porque junto al efecto

directo que estos agentes inducen en estos vasos pueden aparecer respuestas sistémicas tales como cambios en la presión arterial sistémica, en la frecuencia cardíaca, etc. que enmascaran o dificultan el efecto real en los vasos cerebrales. Además, en los estudios in vivo es crucial el modelo experimental elegido puesto que en unos casos se pueden administrar los fármacos de forma crónica en un animal despierto (Lluch y col., 1973) y en otros se requiere anestesia y una cirugía extensa (Sokoloff y Kety, 1960; Lowe y Gilboe, 1971; Reivich, 1971). Un aspecto importante en el modo de acción de estas aminas es su forma de administrarse; no es lo mismo aplicar un determinado agente intravascularmente, que necesita atravesar la capa endotelial de los vasos cerebrales, que administrarlo en el espacio perivascular. En este último caso, el fármaco penetra desde la adventicia a la capa muscular evitando los efectos metabólicos del endotelio (Edvinsson y Mackenzie, 1977). Los estudios in vivo en lechos vasculares periféricos no suele implicar toda esta problemática ya que poseen una accesibilidad y una facilidad de estudio mayor.

El análisis de los efectos de las aminas en segmentos cilíndricos o en tiras helicoidales brinda la oportunidad de estudiar mecanismos más que alteraciones hemodinámicas. Se puede por ejemplo, analizar un solo tipo de receptor bloqueando

todos los demás, y así identificarle mejor, puesto que excluimos todos los posibles factores que podrían modificar el calibre de los vasos en el animal entero. Por supuesto, la simplificación de los estudios in vitro lleva consigo la dificultad de extrapolar algunos resultados al animal entero. También debemos considerar que la reactividad de los vasos puede alterarse por la forma en que se realiza la disección o por su posterior tratamiento.

1. Noradrenalina y adrenalina:

Los resultados de la influencia de estas aminas en el flujo sanguíneo cerebral ha sido conflictivo durante mucho tiempo ya que su administración intravenosa o intraarterial han dado respuestas muy diferentes. Así la administración de noradrenalina ó adrenalina han incrementado variablemente (Frank y col., 1956; Meyer y col., 1964) no han afectado (Green y Denison, 1956; Edelman y col., 1972; Olesen, 1972) o han disminuido (Lowe y Gilboe, 1971; Lluch y col., 1973; Alborch y col., 1977) el flujo sanguíneo cerebral. De todas formas el resultado más frecuente encontrado tras la administración de estas aminas ha sido una disminución del mismo, fundamentalmente con la noradrenalina.

Estas diferencias de respuesta del lecho vascular cerebral a noradrenalina puede deberse a la dificultad para que las aminos atraviesen la barrera hematoencefálica o al estado funcional de los vasos cerebrales (Edvinsson y Mackenzie, 1976). Cuando estos vasos están maximamente dilatados, la administración de catecolaminas teóricamente disminuirá grandemente el flujo sanguíneo cerebral; por el contrario, la administración de catecolaminas tendrá poca influencia vasoconstrictora si los vasos tienen un diámetro inferior al normal.

En vasos cerebrales aislados la noradrenalina induce respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes (Toda y Fujita, 1973; Allen y col., 1974b; Edvinsson y Owman, 1974; Edvinsson y col., 1975; Allen y col., 1976; Marín y Salaices, 1978). Las arterias cerebrales son poco sensibles a noradrenalina si se compara con la respuesta que esta amina produce en arterias periféricas (Toda y Fujita, 1973; Toda y col., 1978). Los efectos contráctiles inducidos por noradrenalina están mediados por los receptores adrenérgicos alfa ya que estos efectos se disminuyen con la administración de fentolamina o fenoxibenzamina bloqueantes específicos de los receptores antes mencionados (Nielsen y Owman, 1971; Edvinsson y Owman; 1974; Urquilla y col., 1975; Duckles y Bevan, 1976; Marín y col., 1979). La débil sensibili-

dad de las arterias cerebrales a la noradrenalina y fenilefrina (Edvinsson y Owman, 1974), la respuesta bifásica atípica de la curva dosis-respuesta a noradrenalina (Dukles y Bevan, 1976) y el hecho de que el antagonismo con fenoxibenzamina y fentolamina sea más efectivo en las arterias periféricas que en las cerebrales (Toda y col., 1978) parece sugerir que los alfa receptores presentes en las arterias cerebrales son diferentes a los existentes en las arterias periféricas.

La microaplicación perivascular de noradrenalina (Wahl y col., 1972b; Kuschinsky y Wahl, 1975, 1977a) y adrenalina (Wahl y col., 1972a) también producen una vasoconstricción dosis-dependiente. Estos efectos vasoconstrictivos inducidos por noradrenalina están mediados por los receptores alfa adrenérgicos puesto que se antagonizan con fentolamina (Roseblum, 1976b; Kuschinsky y Wahl, 1975).

La respuesta normal de estos vasos a noradrenalina puede alterarse con la denervación simpática (por extirpación de ambos ganglios cervicales superiores) o con el tratamiento previo de los vasos con cocaína. Ambos procedimientos bloquean la incorporación del neurotransmisor a la terminación nerviosa simpática e incrementan la concentración de noradrenalina a nivel del receptor; por consiguiente cabe esperar una potenciación

en la respuesta. Si esto es así puede pensarse que la débil respuesta a esta amina pudiera ser debida a que el lecho vascular cerebral tiene incrementado el sistema de incorporación neuronal (uptake 1) para noradrenalina. Sin embargo, el hecho de que con cocaína o denervación se haya encontrado potenciación a noradrenalina en arterias cerebrales de gato (Edvinsson y col., 1975) y no en arterias cerebrales de perro o cabra (Toda y col., 1978; Marín, resultados no publicados) sugiere que la importancia del sistema de incorporación en esta potenciación parece depender de la especie animal.

2. Isoproterenol:

La administración intravascular de isoproterenol mejora los efectos del espasmo vascular cerebral en pacientes (Sundt y Onofrio, 1975) e incrementa el flujo sanguíneo cerebral en cabras sin anestesar (Lluch y col., 1973). También O'Neill y Traystman (1977) comprobaron que esta amina da lugar a un aumento del flujo sanguíneo periférico que se bloqueaba con propranolol por lo que concluyeron que los receptores beta debían estar implicados.

El efecto del isoproterenol en arterias cerebrales aisladas parece ser dependiente de la contracción previa de las

mismas. Así cuando el vaso está sometido a un grado de tensión pequeño, el isoproterenol induce vasoconstricción (Duckles y Bevan, 1976; Edvinsson y Owman, 1974), dilatación o no efecto (Urquilla y col., 1975; Cheng y Shibata, 1978). Por otra parte, si se contrae previamente los vasos, p.ej.: con serotonina o prostaglandinas, el isoproterenol induce vasodilatación (Edvinsson y Owman, 1974; Toda, 1974; Edvinsson y col., 1976). Este efecto se bloquea con propranolol (Edvinsson y Owman, 1974; Toda, 1974) lo cual indica que esta mediado por receptores beta. Posteriormente se ha comprobado que en esta vasodilatación están implicados los receptores β_1 (Edvinsson y Owman, 1974; Sercombe y col., 1977).

3. Acetilcolina:

En contraste con el gran número de investigaciones acerca de los receptores adrenérgicos, pocos estudios han sido realizados en los últimos años para conocer los efectos de la acetilcolina y otros agentes colinérgicos en los vasos cerebrales. Es conocido que la acetilcolina incrementa el flujo sanguíneo cerebral y disminuye la resistencia vascular periférica tras su administración intracarotídea o intravertebral (Handa y col., 1968; Spira y col., 1976; Matsuda y col., 1976), efecto que se

bloquea con atropina. Este incremento del flujo sanguíneo cerebral es menor que el que se encuentra en el flujo sanguíneo periférico tras la aplicación de acetilcolina (Lowe y Gilboe, 1973; Spira y col., 1976). De igual manera, la aplicación perivascular (Kuschinsky y col., 1974) o la administración intravascular (McClure y Green, 1959; Aubineau y Sercombe, 1977) de fármacos parasimpaticomiméticos, como el carbacol o metacolina, produjeron dilatación de los vasos o aumento del flujo sanguíneo que fue también bloqueado por atropina, indicando la presencia de receptores muscarínicos en el árbol vascular cerebral. Además, estudios realizados en arterias cerebrales de gato, han evidenciado que la acetilcolina normalmente contrae estos vasos, pero puede dar lugar a una relajación, cuando se les ha dado a los mismos un tono contráctil previo; tanto la vasoconstricción como la relajación son bloqueados con atropina (Edvinsson y col., 1977a), lo que indica que ambas respuestas están mediadas por receptores muscarínicos. Sin embargo, Toda (1979) en arterias cerebrales y periféricas de perro, no encontraron respuestas vasoconstrictoras, (a no ser a dosis muy altas de acetilcolina) sino vasodilatadoras cuando se habían contraído previamente los vasos con prostaglandina $F_{2\alpha}$ siendo dicha respuesta bloqueada con atropina.

El hecho de que los vasos cerebrales contengan acetilcolinesterasa (Laurentieva y col., 1968; Edvinsson y col., 1972a; Denn y Stone, 1976), innervación colinérgica (Edvinsson y col., 1972a) y receptores colinérgicos que median las respuestas vasomotoras de esta amina en el lecho vascular cerebral, ha inducido a pensar que la innervación colinérgica puede jugar un papel en el control de la circulación cerebral.

4. Serotonina:

La 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) es una amina biógena, que desde hace unos 100 años se observó que aparecía en el suero tras la coagulación sanguínea. El nombre de serotonina se debe justamente al hecho de que este agente le da al suero sus propiedades vasoconstrictoras (Erspamer, 1954). Múltiples investigaciones han demostrado que este compuesto está ampliamente distribuido en la naturaleza y que además posee una gran variedad de acciones farmacológicas (Douglas, 1975). Un gran desarrollo de la investigación acerca de las propiedades de esta amina comenzó en 1951 cuando Hamlin y Fisher la sintetizaron con lo que los laboratorios podían disponer fácilmente de esta herramienta farmacológica. Se ha comprobado que la 5-HT está presente en el cerebro (Twarog y Page, 1953; Amin y col., 1954). Simultáneamente se comprobó que la dietilamida del ácido liser-

gico (LSD) es un antagonista de la serotonina a nivel de los receptores triptaminérgicos presentes en el musculo liso (Gaddum, 1953). Este hecho abrió un enorme campo de investigación en la década de los 50 puesto que ya se podía disponer de un bloqueante específico de los receptores en los que actuaba la 5-HT. Más tarde se comprobó que la administración de reserpina daba lugar a una gran disminución en el contenido de serotonina en el cerebro (Brodie y Shore, 1957). Todas estas investigaciones básicas y otras muchas han hecho posible que en la actualidad no exista ninguna duda acerca de que la serotonina es un neurotransmisor en el sistema nervioso central. Aunque la serotonina ha estado frecuentemente implicada en la patogénesis de ciertas enfermedades vasculares se carece aún de un adecuado conocimiento de los efectos fisiológicos y farmacológicos de esta amina. Se ha comprobado que la serotonina se libera en los traumatismos (Osterholm y col., 1969), lesiones producidas por frío (Costa y col., 1974) y en la isquemia (Welch y col., 1972). De forma análoga, la 5-HT es un importante candidato en la patogénesis del vasoespasmo cerebral (Raynor y col., 1961; Raynor y Mcmurty, 1963) y de la migraña (Anthony y col., 1967; Kagasmiemi y col., 1972; Sicuteri y col., 1973). En la periferia, la 5-HT se encuentra almacenada a altas concentraciones en plaquetas, células mas-

toides de ciertas especies, y en células enterocromafines. Se ha postulado que en determinadas circunstancias la 5-HT podría ser liberada de sus lugares de almacenamiento y afectar a la musculatura lisa vascular.

La aplicación de serotonina en vasos cerebrales aislados produce una intensa vasoconstricción (Bohr y col., 1961; Nielsen y Owman, 1971; Toda y Fujita, 1973; Allen y col., 1974b; Yashon y col., 1975; Urquilla y col., 1975; Edvinsson y Hardebo, 1976; Edvinsson y col., 1978b) que puede ser inhibida por los bloqueantes serotoninérgicos, metisergida (Edvinsson y Hardebo, 1976; Edvinsson y col., 1978b) y LSD (Urquilla y col., 1975) así como por dosis altas de fenoxibenzamina, antagonista irreversible de los receptores adrenérgicos alfa (Edvinsson y Hardebo, 1976; Edvinsson y col., 1978b).

A pesar de que la vasoconstricción es el efecto más frecuente de esta amina, hay experimentos en que la 5-HT induce relajación. Esta respuesta puede deberse a las diferencias existentes entre distintas especies animales, bien sea por variaciones regionales o en función del tono del vaso, que creemos es el factor más importante, así a más tono es más frecuente la relajación (Haddy y col., 1959). Este hecho también se ha comprobado en arterias cerebrales y periféricas de gato, - previamente contraídas por un agente vasoactivo, en las que la serotonina produce una dilatación dosis-dependiente probablemente relacionada con los receptores beta adrenérgicos (Edvinsson

y col., 1978b). Analogamente se ha observado que la serotonina produce dilatación arteriolar (Mackenzie y col., 1977), sin embargo los grandes vasos, tales como la carótida interna generalmente, se contraen como respuesta a la administración sistémica de 5-HT (Grimson y col., 1969; Deshmukh y Harper, 1973).

Además de estos efectos directos sobre receptores serotoninérgicos, se dispone de alguna evidencia acerca de que la serotonina pueda tener un efecto adrenérgico indirecto en su efecto vasoconstrictor a nivel de las arterias cerebrales. Por ejemplo el espasmo inducido por la aplicación intracisternal de 5-HT es abolido por fenoxibenzamina, un bloqueante alfa adrenérgico irreversible, (Allen y col., 1974a). Además en cabras sin anestesiarse ha comprobado que la administración de serotonina directamente en la circulación cerebral produce una reducción del flujo sanguíneo cerebral dosis-dependiente que se antagoniza con el tratamiento previo con fentolamina o reserpina (Lluch y col., 1976). Recientemente McGrath (1977) y Jauerning y Moulds (1978) han comprobado en arterias extracraneales aisladas de perro y hombre, respectivamente, que los efectos vasoconstrictores de la 5-HT son bloqueados parcialmente por fentolamina. Estos resultados apuntan hacia un efecto tiraminérgico de la serotonina cuyo estudio puede ser importante para el entendimiento y

tratamiento del espasmo arterial cerebral. Por otra parte, se dispone de hallazgos experimentales que han demostrado que el efecto de la 5-HT sobre tiras de bazo de gato (Pluchino, 1972) y en corazón de perro (Fillion y col., 1971) se debe en gran parte a su capacidad para liberar noradrenalina de las terminaciones simpáticas. En consecuencia los efectos de la 5-HT sobre los vasos parecen ser bastante complejos, puesto que aparte de los efectos directos sobre receptores serotoninérgicos, que generalmente son vasoconstrictores, puede aparecer también en su mecanismo de acción un efecto de tipo indirecto, es decir, liberador de catecolaminas que contribuiría a la respuesta vasoconstrictora de esta amina.

Recientemente Curro y col. (1978) han demostrado en vena safena de perro que los receptores serotoninérgicos y alfa-adrenérgicos están bastante relacionados e incluso pueden ser el mismo tipo de receptor. Análogos resultados han sido obtenidos en arterias cerebrales de cabra (Marín, 1979).

5. Histamina:

Existe evidencia experimental que sugiere que la histamina en el cerebro se almacena en neuronas intracerebrales (Snyder y Taylor, 1972). Estudios histoquímicos han demostrado

que la histamina está presente en las células cebadas a menudo con una localización perivascular (Rönnberg y col., 1973). Esto induce a pensar en la posibilidad de una acción local de la histamina en los vasos cerebrales. Se ha observado que la histamina produce respuestas vasoconstrictoras en los vasos cerebrales y periféricos (Politoff y Macri, 1966; Nielsen y Owman, 1971; Sundt y Winkelmann, 1972; Allen y col., 1974b; Lee y Bevan, 1974; Urquilla y col., 1975; Edvinsson y col., 1976; Marín y Salaices, 1978). Los efectos vasoconstrictores de esta amina se antagonizan por los clásicos antihistamínicos H_1 tales como difenhidramina, mepiramina, etc. (Urquilla y col., 1975; Edvinsson y Owman, 1975).

Al igual que ocurre con la acetilcolina, si a las arterias se les da una contracción tónica previa y además se bloquean los efectos vasoconstrictores con mepiramina, la histamina produce dilatación dosis-dependiente tanto en las arterias cerebrales como periféricas (Edvinsson y Owman, 1975; Edvinsson y col., 1976). La aplicación previa de burimamida da lugar a un desplazamiento paralelo de la curva dosis-efecto, indicando que la dilatación está mediada por receptores histamínicos H_2 (Edvinsson y Owman, 1975).

La microaplicación perivascular de histamina en arterias piales de gato produce unicamente vasodilatación, la administración previa de cimetidina, bloqueante de los receptores H_2 , disminuye esta dilatación. Sin embargo, mepiramina, bloqueante H_1 , tuvo muy poco efecto (Kunshcinsky y Wähl, 1977b). Estos resultados indican que la histamina es un potente vasodilatador de las arterias piales in vivo debido a la activación de los receptores H_2 .

Estudios angiográficos efectuados en el mono (Watters, 1971) han revelado que la histamina produce una gama de respuestas que van desde una marcada vasodilatación hasta una vasoconstricción vascular cerebral según se va aumentando la dosis. Estas observaciones indican que la histamina puede inducir vasodilatación o vasoconstricción dependiendo de las condiciones experimentales.

6. Dopamina:

La dopamina es una amina que atraviesa pobremente la barrera hematoencefálica (Bertler y col., 1962; Olendorf, 1971). Estudios realizados in vitro e in vivo en diferentes especies animales, han sugerido que la dopamina está implicada en una gran variedad de funciones fisiológicas y fisiopatológicas en las que están envueltos una serie de receptores específicos

para dopamina (Calne y col., 1975; Iversen y col., 1975; Costa y Gessa, 1977, Pendleton y Setler, 1977). Además, se ha demostrado que la dopamina puede actuar en los receptores alfa y beta₁ adrenérgicos, y posiblemente también sobre los adrenérgicos beta₂ y serotoninérgicos (Goldberg, 1972; Goldberg y col., 1978). Por otra parte es conocida la existencia de sistemas dopaminérgicos centrales, algunos de los cuales están estrechamente asociados con microvasos cerebrales, por lo que se ha sugerido que podrían tener alguna influencia vasomotora (Edvinsson y col., 1978a).

La existencia de receptores específicos dopaminérgicos se ha observado en vasos renales, mesentéricos, coronarios y hepáticos pero no en los lechos vasculares femoral y carotídeo (Goldberg, 1972).

Recientemente se ha demostrado que la dopamina es capaz de contraer o dilatar vasos cerebrales aislados (Von Essen, 1974; Toda y col., 1975; Toda, 1976; Edvinsson y col., 1977b) y que la apomorfina, un agonista específico dopaminérgico, incrementa el flujo sanguíneo cerebral, siendo este efecto abolido por infusión intravenosa de pimozida, antagonista de los recepto-

res dopaminérgicos (Von Essen y Roos, 1974).

Experimentos realizados in vivo, utilizando la técnica de microaplicación perivascular, han comprobado que la dopamina contrae las arterias piales de la superficie de la corteza cerebral de gato y que antagonistas dopaminérgicos dilatan estos vasos (Edvinsson y col., 1977b).

Se ha demostrado en arterias y venas periféricas que la contracción inducida por dopamina se debe a la activación de receptores alfa adrenérgicos (Goldberg, 1972, 1975). Sin embargo, en arterias cerebrales de gato y hombre, la contracción inducida por dopamina parece estar mediada más por los receptores serotoninérgicos que por los alfa adrenérgicos (Edvinsson y col., 1978a), pero si a los vasos se les da un tono previo inicial, la dopamina induce respuestas vasodilatadoras dosis-dependientes que parecen estar mediadas por receptores específicos dopaminérgicos (Edvinsson y col., 1978a)

7. Tiramina y Estimulación Eléctrica:

La existencia del neurotransmisor adrenérgico en las terminaciones nerviosas simpáticas presentes en las arterias cerebrales puede ponerse de manifiesto bien mediante el empleo de fármacos simpaticomiméticos de acción indirecta como la tira-

mina (Trendelenburg, 1961) o mediante la estimulación eléctrica, la cual produce una despolarización semejante a la del impulso nervioso (Eccles, 1973).

La noradrenalina liberada por tiramina es capaz de inducir una respuesta en el órgano efector que estará disminuida por acción de fármacos o procedimientos que antagonicen el efecto del neurotransmisor liberado, bien bloqueando los receptores sobre los que actúa (en nuestro caso los alfa adrenérgicos, con fentolamina), que disminuyan el contenido neuronal de noradrenalina (con reserpina) o por degeneración de las fibras nerviosas perivasculares, al extirpar ambos ganglios simpáticos cervicales superiores.

Al administrar directamente tiramina en la circulación cerebral de la cabra despierta, se puso de manifiesto una disminución del flujo sanguíneo cerebral dependiente de la dosis, que para la máxima empleada, fue del 36% (Lluch y col., 1975). Tanto el tratamiento con reserpina como el bloqueo con fentolamina disminuyeron la vasoconstricción cerebral producida por tiramina. Estos resultados indican que la disminución del flujo sanguíneo cerebral producido por tiramina, es debido a que esta amina libera noradrenalina de las terminaciones nerviosas, la

cual actuaría posteriormente en los receptores alfa adrenérgicos.

Experimentos realizados in vitro han comprobado que la tiramina contrae las arterias cerebrales de forma dosis dependiente (Nielsen y col., 1971; Urquilla y col., 1974; Edvinsson y col., 1975; Marín y Salaices, 1978; Toda y col., 1978). Esta respuesta es bloqueada por simpatectomía, tratamiento con reserpina o con la administración de fentolamina (Urquilla y col., 1974; Edvinsson y col., 1975). Por otra parte, Urquilla y col. (1974) pusieron de manifiesto en la arteria cerebral media de cabra, que la tiramina además del efecto indirecto, posee un efecto directo sobre el músculo liso vascular después de observar: a) que la reserpinización disminuye sólo las respuestas vasoconstrictoras inducidas por dosis bajas de tiramina, sin modificar las respuestas máximas; b) que es necesario utilizar dosis altas de cocaína (10^{-4} M) para disminuir la respuesta a tiramina, es decir, para bloquear la incorporación de esta amina a la terminación nerviosa, y c) las respuestas a noradrenalina son inferiores a las obtenidas con tiramina. También Toda y col. (1978) encontraron que en las arterias cerebrales de perro la tiramina actuaba principalmente por un mecanismo directo sobre los receptores alfa adrenérgicos, mientras que en la arteria mesentérica de este animal, esta amina tenía tanto un efecto directo como indirecto. Sin embargo en la aorta de rata, Krishnamurty y Grollman (1972) observaron que la respuesta

contráctil frente a tiramina, era debida exclusivamente a la acción directa de esta amina sobre los receptores alfa adrenérgicos.

En resumen, podemos decir que la tiramina además de su efecto indirecto liberador de catecolaminas, tiene un efecto directo sobre los receptores alfa adrenérgicos, y dependiendo del órgano efector y de la especie animal, predominará uno u otro.

Se ha observado que la estimulación eléctrica de la cadena simpática cervical en aves (Krog, 1963) o del ganglio estrellado en perros (D'Alecy y Feigl, 1972) produce una disminución del flujo sanguíneo cerebral que en este último caso alcanzó el 64%. Estos hallazgos apuntan hacia una posible participación de la inervación nerviosa simpática en el control del flujo sanguíneo cerebral. Análogos resultados fueron obtenidos por Lluch y col. (1975) en cabras despiertas a las que se les estimuló eléctricamente la cadena simpática cervical. Estos investigadores encontraron una reducción del mencionado flujo que fue dependiente de la frecuencia de estimulación. La administración de fentolamina directamente en la circulación cerebral disminuyó los efectos vasoconstrictores de la estimulación. Estos hechos indican que este proceder experimental produce liberación de noradrenalina endógena de las terminaciones nerviosas perivasculares, la cual a su vez actuaría sobre los receptores alfa adrenérgicos responsables,

en última instancia de la vasoconstricción cerebral. Resultados semejantes fueron obtenidos por Whal y Kuschinsky (1977) en arterias cerebrales de gato. En efecto, estos investigadores observaron que la estimulación eléctrica de la cadena simpática cervical, inducía una contracción de las arterias piales que era reducida con la aplicación perivascular de fentolamina.

La estimulación eléctrica de vasos aislados también se ha utilizado para poner de manifiesto la participación simpática en las variaciones del calibre de los vasos, y de esta manera conocer si la noradrenalina presente en los vasos cerebrales existe en cantidad suficiente para producir efectos vasomotores. Los resultados obtenidos han sido conflictivos ya que mientras hay una serie de investigadores que han comprobado que la estimulación eléctrica de campo contrae las arterias cerebrales de hombre (Shibata y col., 1977), gato (Edvinsson y col., 1976), conejo (Bevan y Bevan, 1973; Lee y col., 1976), cabra (Conde y col., 1978), perro (Muramatusu y col., 1978; Duckles, 1979) y oveja (Duckles, 1979), otros investigadores no han encontrado respuesta vasoconstrictora en arterias cerebrales de perro y buey (Toda y Fujita, 1973; Cheng y Shibata, 1978). En arterias cerebrales de gato (Lee y col., 1978), observaron que la estimulación eléctrica producía vasodilatación, mientras que en la arteria safena del mismo animal, utilizando los mismos paráme-

metros de estimulación, solo obtuvieron contracción. Estos investigadores sugirieron que en las arterias cerebrales existen fibras nerviosas vasoconstrictoras y vasodilatadoras y que según la especie animal puede predominar una sobre la otra.

Se ha comprobado también que la estimulación eléctrica incrementa la liberación de radioactividad de las arterias cerebrales, previamente incubadas con H^3 -noradrenalina, y que dicha liberación disminuye tras la gangliectomía simpática cervical o mediante la administración previa de fármacos bloqueantes neuronales adrenérgicos, tales como guanetidina o bretilium (Edvinsson y col., 1976). Estos resultados confirman de forma directa que la estimulación eléctrica de los vasos produce liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas simpáticas.

22/6

PLAN DE TRABAJO

El presente trabajo tiene por objeto analizar comparativamente las respuestas vasomotoras inducidas por diferentes agentes vasoactivos y la estimulación eléctrica en arterias cerebrales y periféricas de gato. Para ello, se realizarán en ambos tipos de arterias los siguientes abordajes experimentales:

1. Análisis de la participación de los receptores alfa adrenérgicos en la respuesta vasoconstrictora producida por noradrenalina. Para ello, se analizará el efecto del bloqueante alfa adrenérgico, fentolamina, sobre la curva dosis-respuesta a esta amina. También se estudiará el efecto de cocaína, bloqueante de la incorporación de noradrenalina a la terminación nerviosa, sobre la respuesta contráctil evocada por el neurotransmisor adrenérgico.
2. Análisis de los receptores implicados en la respuesta vasoconstrictora inducida por isoproterenol. Con este fin se estudiará el efecto de fentolamina y del agente bloqueante beta adrenérgico, propanolol, sobre la curva dosis-respuesta a isoproterenol.

3. Estudio de la participación de los receptores muscarínicos en la respuesta obtenida con acetilcolina. Para ello, se investigarán las modificaciones que produce en las curvas dosis-respuesta, el bloqueo de dichos receptores con atropina.
4. Análisis de los efectos directos e indirectos de la 5-HT en la respuesta contráctil inducida por esta amina. Con este proposito, se estudiarán, con la ayuda de curvas dosis-respuesta, los efectos de la serotonina en segmentos procedentes de gatos controles y las modificaciones que a dichas curvas produce la administración previa de reserpina. Además, se analizará el efecto de fentolamina y LSD, bloqueante serotoninérgico, sobre las curvas dosis-respuesta a 5-HT.
5. Análisis de la participación de los receptores H_1 en la respuesta vasoconstrictora de histamina. Con este fin, se utilizará un bloqueante de dichos receptores (difenhidramina) para ver las posibles modificaciones que pueden aparecer en la curva dosis-respuesta a esta amina.
6. Estudio de los receptores implicados en la vasoconstricción obtenida con dopamina. Para ello, se analizará el efecto de fentolamina y haloperidol (bloqueante dopaminérgico) en la respuesta contráctil evocada por dopamina.

7. Análisis de los efectos directos e indirectos de la tiramina en la respuesta vasoconstrictora inducida por esta amina. Con esta finalidad, se analizará el efecto que sobre las curvas dosis-respuesta a tiramina produce la fentolamina y el pretratamiento de los animales con reserpina. Además, se comprobará el efecto que produce la extirpación de ambos ganglios simpáticos cervicales superiores, en la respuesta a tiramina.
8. Estudio de los mecanismos implicados en la respuesta vasoconstrictora inducida por estimulación eléctrica. Para ello, se estimularán eléctricamente segmentos arteriales en presencia de fármacos que: a) impidan la transmisión del potencial de acción a lo largo de la fibra nerviosa (tetrodotoxina), b) bloqueen la liberación del neurotransmisor de la terminación nerviosa adrenérgica (bretilium), c) bloqueen los receptores alfa adrenérgicos (fentolamina) y d) impidan la recaptación de las aminas por la terminación nerviosa (cocaína).

Por otra lado, se estimularán eléctricamente segmentos arteriales de animales reserpinizados y gangliectomizados con el fin de vaciar por mecanismos diferentes los depósitos endógenos de catecolaminas.

9. Como índice de la actividad simpática, de estos vasos, se medirá el contenido de noradrenalina tanto en arterias procedentes de animales controles como en las de animales tratados con reserpina y gangliectomizados.

260

MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se han utilizado, como animales de experimentación, 112 gatos que fueron suministrados por el Parque de Animales de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

Los gatos de ambos sexos cuyo peso osciló entre 1.5 y 4 Kg se sacrificaron mediante la administración intraperitoneal de pentobarbital sódico y posterior sangría por sección de la arteria carótida. Posteriormente se disecaron las arterias cerebrales, previa extracción cuidadosa del cerebro, y las arterias femorales. La disposición anatómica de las arterias situadas en la base del cerebro de gato está esquemáticamente representada en la figura 1.

1. CURVAS DOSIS-RESPUESTA

Para la realización de las curvas dosis-respuesta se utilizaron segmentos cilíndricos de unos 4 mm de longitud de arterias comunicante posterior y femoral de gato.

Para registrar la contracción isométrica de los cilindros vasculares se empleó el método de Nielsen y Owman (1971) que consiste en introducir dos alambres finos, pero rígidos

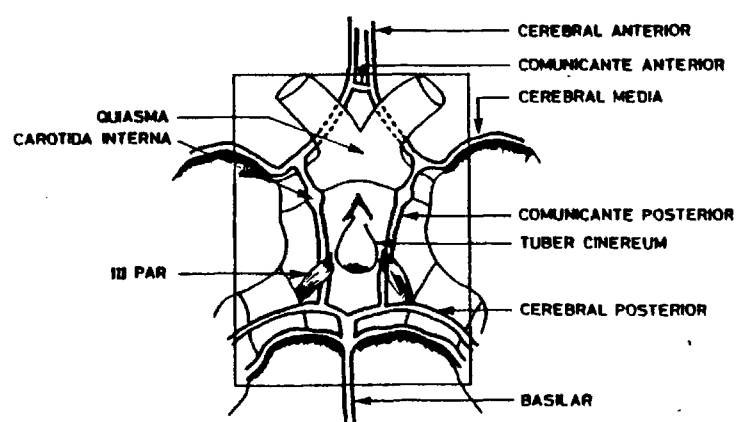


Figura 1.: Representación esquemática de las arterias situadas en la base del cerebro de gato.

por la luz del segmento, uno de ellos fijo a la parte inferior del baño y el otro, que se desplaza paralelamente al anterior, unido a un transductor de fuerza, (Grass FT D3 C) que a su vez comunica con un polígrafo (Grass modelo 7D) en donde se registran los cambios de tensión (Fig. 2).

Cuando se estimuló eléctricamente se situaron a ambos lados del segmento dos electrodos de platino que a su vez iban conectados a un estimulador Grass S44.

El baño de órganos en donde se introdujeron los segmentos contenía 6 ml de solución Krebs-Henseleit, mantenida continuamente a 37°C y burbujeada constantemente con una mezcla de 95% de O₂ y 5% de CO₂ (SEN) que le daba un pH comprendido entre 7,3-7,4. A los cilindros arteriales se les aplicó una tensión inicial de 0.5 g, en el caso de la arteria comunicante posterior y 1 gr. cuando se trataba de la arteria femoral. Esta tensión inicial se reajustaba a la vez que se cambiaba el líquido del baño cada 15 min aproximadamente. Al cabo de 90-120 min los segmentos estaban equilibrados a una tensión de reposo de 0.5 y 1 g, respectivamente.

La composición de la solución de Krebs-Henseleit expresada en concentración mM fue:

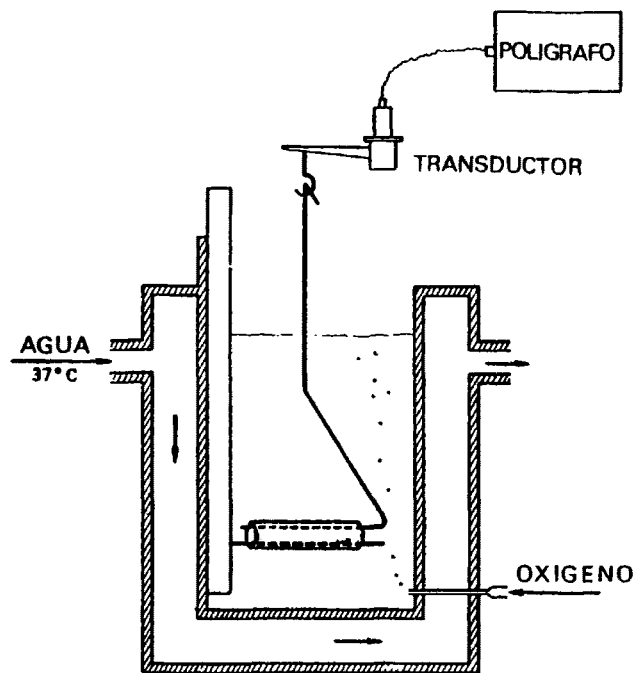


Figura 2.: Esquema de la preparación experimental para el estudio de la contracción isométrica de los segmentos vasculares.

ClNa	115	SO ₄ Mg.7H ₂ O	1.2
ClK	4.6	CO ₃ HNa	25
Cl ₂ Ca	2.5	Glucosa	11.1
PO ₄ H ₂ K	1.2	Na ₂ EDTA	10 ⁻⁵

La adición de Na₂EDTA al líquido nutritivo, se hizo con la finalidad de retrasar la oxidación de los compuestos derivados del grupo catecol.

Las curvas dosis-respuesta a los distintos fármacos se hicieron acumulativamente, no sobrepasando en ningún caso el volumen añadido al 10% del volumen inicial del baño.

2. CURVAS FRECUENCIA-RESPUESTA

Para la estimulación eléctrica de campo se utilizaron trenes de 300 impulsos monofásicos de 0.5 milisegundos de duración, con voltajes supramáximos y de frecuencias 1, 2, 4, 8, 16 y 32 Hz. En cada segmento se realizó una sola curva frecuencia-respuesta para evitar las posibles alteraciones en el mecanismo contráctil provocadas por la estimulación seriada.

3. ADMINISTRACION DE FARMACOS

a) Tratamiento con reserpina:

Se administró reserpina a los gatos para vaciar el contenido de catecolaminas de las terminaciones nerviosas

simpáticas presentes en los vasos cerebrales. La dosis utilizada de reserpina fue de 2 mg/kg el primer día y 1 mg/kg el segundo día. Para tener un índice inicial del grado de reserpinización conseguido, se controló la presencia de manifestaciones de este estado (diarrea, depresión profunda) antes de que el animal fuese sacrificado.

b) Fármacos antagonistas:

Se utilizaron los siguientes fármacos:

- Fentolamina 10^{-6} M con el fin de bloquear los receptores alfa adrenérgicos presentes en estos lechos vasculares.
- Propranolol, 5×10^{-9} M; 5×10^{-8} M ó 10^{-6} M, para bloquear los receptores beta adrenérgicos.
- Difenhidramina con objeto de bloquear los receptores histamínicos H_1 .
- Atropina 10^{-9} M para bloquear los receptores muscarínicos.
- LSD, 10^{-8} M para bloquear los receptores serotoninérgicos.
- Haloperidol, 10^{-6} M, con el fin de bloquear los receptores dopaminérgicos.
- Cocaína 2×10^{-6} M para bloquear la incorporación de aminas a la terminación nerviosa.

- Tetrodotoxina, $10^{-6}M$, para impedir la propagación del potencial de acción sin afectar a la excitabilidad de las células del músculo liso.
- Bretilium, $5 \times 10^{-4}M$, para inhibir la liberación de catecolaminas por la estimulación eléctrica.

Cuando se utilizaron los fármacos citados anteriormente, estuvieron presentes en el baño desde 10 min antes y durante la determinación de la curva dosis-respuesta, excepto en el caso del bretilium que por acumularse y quedar retenido en la terminación nerviosa simpática, se lavó después de pasados los 10 min, para evitar su efecto cocaínico.

c) Fármacos agonistas:

Las soluciones de noradrenalina, serotonina, tiramina, histamina, acetilcolina, isoproterenol y dopamina se disolvieron en una solución salina fisiológica que contenía 0.01% (peso/volumen) de ácido ascórbico para evitar su oxidación. Aunque probablemente este proceder no interfiere en las respuestas inducidas por dichas aminas, los demás fármacos utilizados se disolvieron en este mismo medio.

Las soluciones más concentradas se mantuvieron en el congelador a $-20^{\circ}C$ y a partir de ellas se prepararon las solucio-

nes utilizadas en cada experimento.

4. GANGLIECTOMIA CERVICAL SUPERIOR. TECNICA QUIRURGICA

A los animales se les administró previamente 0.5 mg/Kg de atropina y 35 mg/kg de pentobarbital e inmediatamente se practicó una incisión medial en la región cervical anterior. Después se procedió a la disección cuidadosa de las ramas del vago y del simpático cervical a nivel del ganglio superior. Posteriormente se realizó una gangliectomía cervical superior tras seccionar por encima y por debajo todas las fibras del simpático.

Se comprobó si la gangliectomía estaba bien realizada observando si se producía la caída de la membrana nictitante correspondiente al mismo lado del ganglio extirpado. Aquellos animales que no presentaron este signo fueron rechazados.

5. ANALISIS RADIOENZIMATICO DE NORADRENALINA

Para estudiar el contenido de noradrenalina existente en estos lechos vasculares se utilizó el método radioenzimático descrito por Henry y col. (1975) de gran sensibilidad y que se basa en la N-metilación de la misma por medio de la feniletanolamina N-metil-transferasa (PNMT) en presencia de H³-s-adenosil-

metionina (H^3 -SAM) como donador de grupos metilos. Esta reacción da lugar a la formación de H^3 -adrenalina (Fig. 3) que tras un proceso de extracción y purificación, que se describirá a continuación, se valora en un contador de centelleo para líquidos (Nuclear Chicago, modelo ISOCAP-300).

Una vez disecadas las arterias cerebrales o femorales, se pesaron y a continuación se homogeneizaron en 1 ml de ClH 0.1 N y se centrifugaron a 15.000 r.p.m. Posteriormente 50 μ l del sobrenadante se mezclaron con una solución de tris-clorhídrico (2 M, pH = 9.2 con 5 g/100 ml de EDTA) + 5 μ l que contenían 2.5 μ l de H^3 -SAM + 10 μ l de PNMT purificada. A continuación, las muestras se incubaron 30 min a 37°C en un baño de agua con agitación continua tipo Dubnoff. La reacción se interrumpió mediante la adición de 2 ml de buffer de fosfatos 0.5 M, pH = 10 que contenía 5 g/100 ml de EDTA y 0.1 mM de ditiotreitól. Seguidamente se adicionaron 150 mg de Al_2O_3 activada a cada tubo y estos se agitaron en un agitador Vortex cuatro veces, durante 10 a 15 segundos cada vez. Después de centrifugar a baja velocidad (3.000 r.p.m. en centrífuga clínica durante 3 min), el sobrenadante se desechó por aspiración. La alúmina (Al_2O_3) se lavó tres veces con 5 ml de agua destilada y se agitó en un Vortex tres veces durante 10 segundos cada vez. Después de cada lavado se dejó

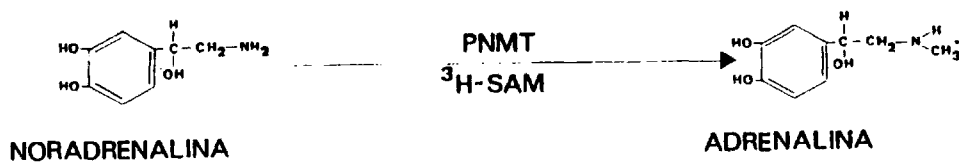


Figura 3.: Fundamento del método radioenzimático para la determinación de noradrenalina. Se basa en la conversión de noradrenalina en ³H-adrenalina en presencia de feniletanolamina-N-metil-transferasa (PNMT), en exceso para N-metilar la noradrenalina; la ³H-S-adenosil-metionina (³H-SAM) se utiliza como donador de grupos metilo.

sedimentar, durante 30 segundos, y se eliminó el sobrenadante, por aspiración con bomba de vacío. Terminado el lavado de la alúmina, la H^3 -adrenalina formada fue eluida mediante la adición de 1 ml de ácido perclórico ($HClO_4$) 0.1 N frío agitando en Vortex cuatro veces durante 10 segundos cada vez. A continuación se añadió a cada tubo 50 ml de una mezcla constituida por: 50 μ l de ácido acético 0.2 N, 50 μ g de 1-adrenalina fría y 100 μ g de cloruro de SAM fría. Posteriormente se adicionaron 100 μ l de una solución saturada de ácido fosfotungstico (25 g/100 ml H_2O). Los tubos se colocaron en agua fría durante 5 min y luego se centrifugaron 5 min a 3.000 r.p.m. Del sobrenadante se transfirió 1 ml a un segundo tubo de centrifuga que contenía: 1 ml de buffer de fosfatos 1 M, pH = 7.15 y 10 ml de dietilhexilfosfórico-tolueno al 1% (volumen : volumen); los tubos se agitaron intensamente en agitador horizontal durante 3 min y después fueron centrifugados 10 min a 5.000 r.p.m. separándose la fase orgánica de la inorgánica. Nueve ml de la fase orgánica (sobrenadante) se transfieren a viales de centelleo, los viales ya contenían 0.4 ml de líquido de centello (Spectrafluor) y tras agitación manual se pusieron a contar en un contador de centelleo para líquidos. La figura 4 refleja la linealidad de la reacción en función de la concentración de noradrenalina.

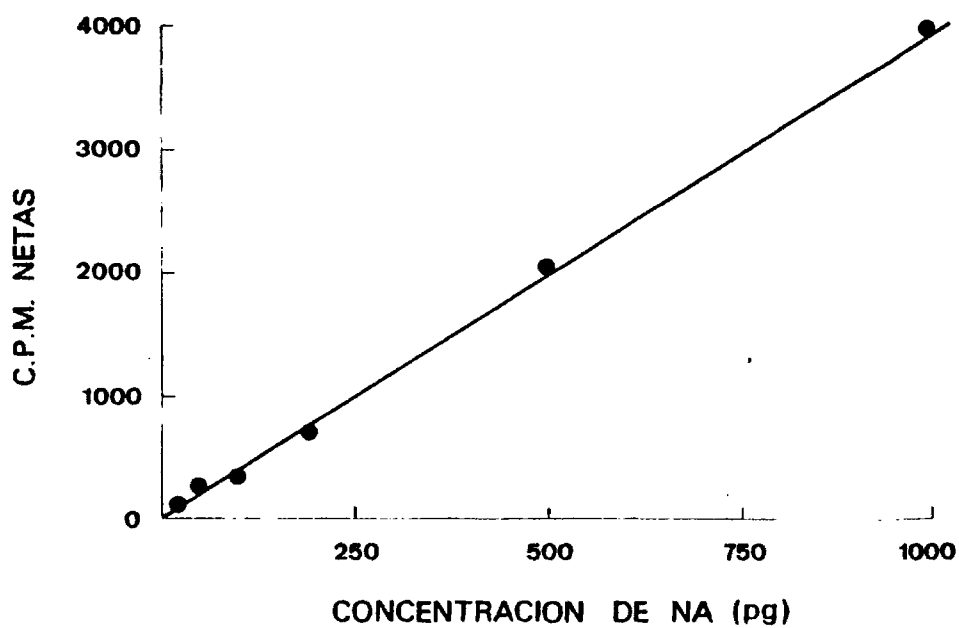


Figura 4.: Curva standard de noradrenalina. La noradrenalina (NA) se disolvió en 50 μ l de ClH 0.1 N (abscisa). Los blancos consistieron en 50 μ l de ClH 0.1 N. Las c.p.m. (ordenadas) son cuentas netas (muestra menos blanco) y representan la velocidad de reacción enzimática (conversión de NA en 3 H-noradrenalina). La figura muestra un experimento representativo.

Para calcular los niveles de noradrenalina en estas arterias de gato se restaron de las cuentas por minuto (cpm) medidas por el contador de centelleo para la muestra, las cpm del blanco, obteniéndose así las cpm netas de la muestra. Comparando las cpm netas obtenidas a partir de 500 pg de noradrenalina con las cpm netas de cada muestra obtendremos los pg de noradrenalina presentes en los 50 μ l del sobrenadante, como se homogeneizaron las muestras en 1 ml de ClH 0.1 N la cantidad de noradrenalina total existente en las mismas se obtuvo multiplicando el resultado anteriormente obtenido por 20.

La expresión matemática resultante que nos da el resultado en mg de noradrenalina por gramo de tejido (x) es:

$$x = A \cdot \frac{500}{P} \times 20 \times \frac{1}{10^{-6}} \text{ mg} \times \frac{1}{\text{g de tejido}}$$

A = Cpm netas de la muestra

P = Cpm netas de los 500 pg de noradrenalina

6. PREPARACION DE LA ALUMINA ACTIVADA

La alúmina (Al_2O_3 neutra de Whoelm, Alemania) se activó según el método descrito por Anton y Sayre (1962). Para ello, se siguió el siguiente procedimiento: 100 g de Al_2O_3 + 500 ml de HCl 2 N se pusieron en un vaso de precipitados de 1.000 ml y se

cubrió con un vidrio de reloj, calentándose entre 90 y 100°C, con agitación continua y rápida durante 45 min.

Se dejó sedimentar a temperatura ambiente durante 90 segundos. El sobrenadante, amarillo se eliminó y se lavó dos veces la Al_2O_3 con 250 ml de HCl 2 N (cada vez) a 70°C y se repitió el anterior punto.

Lavado final con 500 ml de HCl 2 N durante 10 min a 50°C. La Al_2O_3 se lavó de 20 a 25 veces con 200 ml de agua destilada y desionizada hasta conseguir un pH = 3.4 descontando el sobrenadante y las partículas finas.

Finalmente, se transfirió a una cápsula de porcelana y se calentó una hora a 120°C y posteriormente dos horas a 200°C.

La alúmina se guardó en estufa a 37°C para su utilización posterior.

7. CALCULO DE LA DOSIS EFECTIVA₅₀ (DE₅₀) Y DEL pA₂)

Cuando la curva obtenida en presencia de un antagonista se desplazó hacia la derecha, el grado o magnitud del antagonismo ejercido fue expresado por la relación entre las DE₅₀ (dosis que produce el 50% de la respuesta máxima obtenida).

La DE_{50} (medias geométricas) de las curvas promedio se calcularon de la manera siguiente: Se determinó para cada curva dosis-efecto individual la concentración de agonista que producía la mitad de la respuesta máxima, y los logaritmos decimales de estos valores. Posteriormente, se determinó la media aritmética de los mismos y se halló su antilogaritmo. Se fundamenta este método en que las dosis equipotentes están normalmente distribuidas cuando se expresan en forma de sus logaritmos siendo el promedio de estos, la media geométrica de aquellos (Fleming y col., 1972).

En los casos en que hubo antagonismo competitivo, se calculó el pA_2 para dicho antagonismo. Este término se define como el logaritmo negativo de la concentración molar de antagonista que hace necesario multiplicar por 2 la dosis de agonista para lograr un efecto similar al que se obtendría en ausencia de antagonista (Schild, 1947). El pA_2 se puede calcular a partir de la ecuación:

$$\log \frac{1}{Kb} = pA_2$$

donde Kb es la constante de disociación aparente del complejo antagonista-receptor, la cual se calcula con la siguiente fórmula:

$$Kb = \frac{B}{\frac{A'}{A} - 1}$$

siendo B la concentración molar de antagonista utilizada, A la concentración de agonista en el baño y A' la concentración de agonista que en presencia del antagonista, da lugar a una respuesta igual a la obtenida con A en ausencia de antagonista.

8. ANALISIS ESTADISTICO

Los porcentajes, la medias y los errores standard, se calcularon con la ayuda de un microcomputador Hewlett Packard HP 97. Los resultados se analizaron estadísticamente según Snedecor y Cochran (1967).

La significancia entre grupos de experimentos se determinó por la t de Student. Se consideró significativo el valor de $P < 0.05$.

9. PRODUCTOS

En el presente trabajo se utilizaron los siguientes fármacos y reactivos:

9.1. Fármacos

- Bitartrato de noradrenalina (Sigma)
- 5-hidroxitriptamina sulfato de creatinina (NBC).
- Clorhidrato de histamina (Sioma).

- Clorhidrato de acetilcolina (Sigma).
- Clorhidrato de tiramina (Sigma).
- Clorhidrato de isoproterenol (NBC).
- Clorhidrato de dopamina (NBC).
- Clorhidrato de cocaína (Abelló)
- Clorhidrato de fentolamina (Regitina, Ciba).
- Clorhidrato de LSD (Sandoz).
- Clorhidrato de difenhidramina (Parke Davis).
- Clorhidrato de atropina (NBC).
- Clorhidrato de tetrodotoxina (Sankyo).
- Toxilato de betrilium (Burrougks Wellcome).
- Clorhidrato de propranolol (Sigma).
- Haloperidol (Instituto Farmacológico Latino, S.A.).

9.2. Reactivos:

- ClH (Merck)
- ClNa (Carlo Erba)
- ClK (Carlo Erba)
- SO₄Mg (Carlo Erba)
- Cl₂Ca (Panreac)
- PO₄N₂ (Merck)
- Glucosa (Carlo Erba)
- CO₃HNa (Sigma)

- Tris (Hidroximetil-amino-metano, Merck)
- Ditiotreitól (Sigma)
- S-adenosil-L-(Metil-³H) metionina, actividad específica 10.6 ci/mmol (Amersham, Londres).

54915

RESULTADOS

A) ARTERIA COMUNICANTE POSTERIOR

1. Curvas dosis-respuesta a noradrenalina:

La noradrenalina indujo respuestas vasoconstrictoras dosis dependientes. La tensión máxima alcanzada fue de 216 ± 27 mg.

1.1. Influencia de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a noradrenalina:

Con el fin de investigar si la respuesta obtenida era debida a la activación de receptores alfa adrenérgicos, se estudió la interferencia de fentolamina $10^{-6}M$, un antagonista de los receptores antes mencionados, sobre la curva dosis-respuesta a noradrenalina. Como se puede observar en la figura 5 y tabla 8, se obtuvo un desplazamiento de la curva dosis efecto hacia la derecha de 20.7 veces ($P < 0.02$) sin afectar a la respuesta máxima. El valor de pA_2 para este antagonismo fue de 7.92 (tabla 8)

1.2. Influencia de la cocaína sobre la curva dosis-efecto a noradrenalina:

En otro grupo de arterias, se realizó la curva dosis-

respuesta en presencia de cocaína, $10^{-6}M$, con la idea de bloquear la incorporación de noradrenalina a las terminaciones nerviosas. La figura 6 muestra la aparición de una débil potenciación, la cual no fue significativa en ningún punto de la curva ($P > 0.05$).

2. Curvas dosis-respuesta a isoproterenol:

La administración de isoproterenol indujo respuestas vasoconstrictoras en 11 de 26 arterias ensayadas. En el resto se obtuvo una débil vasodilatación o no efecto. La tensión máxima desarrollada fue de 258 ± 49.3 mg.

2.1. Efecto del propranolol en la curva dosis-respuesta a isoproterenol:

Para explorar la posible participación de los receptores beta adrenérgicos en la respuesta vasoconstrictora obtenida con isoproterenol, se utilizó propranolol, $5 \times 10^{-9}M$, antagonista de los receptores beta. Como se puede observar en la figura 7 en presencia de propranolol, se obtuvo una pequeña disminución en la respuesta vasoconstrictora, pero que no fue significativa en ningún punto de la curva. Incluso aumentando la dosis de propranolol hasta $10^{-6}M$ no obtuvimos disminución significativa en la respuesta vasoconstrictora a isoproterenol.

2.2. Efecto de la fentolamina en la curva dosis-respuesta a isoproterenol:

Con la finalidad de estudiar si la respuesta contráctil del isoproterenol era debida a la activación de receptores alfa, se utilizó fentolamina, 10^{-6} M, para bloquear estos receptores. La respuesta obtenida con isoproterenol en estas circunstancias fue significativamente menor que la control (Fig. 8), ($P < 0.05$).

3. Curvas dosis-respuesta a acetilcolina:

La acetilcolina dió lugar a incrementos de tensión dependientes de la dosis. La máxima contracción obtenida fue de 450 ± 78 mg.

3.1. Influencia de la atropina en la curva dosis-respuesta a acetilcolina:

La atropina 5×10^{-9} M se utilizó para comprobar si la respuesta obtenida con acetilcolina era debida a la activación de receptores muscarínicos. En presencia de este antagonista colinérgico se obtuvo un desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta hacia la derecha de 16.3 (Fig. 9, tabla 8). El pA_2 para este antagonismo fue de 9.96 (Tabla 8).

4. Curvas dosis-respuesta a 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina):

Con 5-hidroxitriptamina también se obtuvieron respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes. La contracción observada con la máxima dosis fue de 385 ± 48 mg.

4.1. Influencia de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a 5-HT:

Con el fin de explorar la posible participación de los receptores alfa adrenérgicos en la respuesta inducida por la serotonina se investigó la interferencia de fentolamina 10^{-6} M sobre la curva dosis-respuesta a serotonina. Como se puede observar en la figura 10 la presencia de fentolamina disminuyó la respuesta contráctil únicamente en las dos primeras dosis ($P < 0.05$). Sin embargo, esta concentración de fentolamina fue suficiente para bloquear los receptores alfa adrenérgicos, ya que fue capaz de disminuir significativamente la respuesta vasoconstrictora inducida por la noradrenalina en todas las dosis excepto en las dos últimas (Fig. 5).

4.2. Influencia del LSD sobre la curva dosis-respuesta a serotonina:

Para analizar la participación de los receptores serotoninérgicos presentes en los vasos cerebrales en la respuesta obtenida con serotonina, se añadió al baño

LSD 10^{-8} M, un antagonista de los receptores serotoninérgicos. En estas condiciones la respuesta inducida por 5-HT disminuyó significativamente con respecto a los controles ($P < 0.025$; Fig. 11).

4.3. Influencia del tratamiento con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a serotonina:

El tratamiento previo de los animales con reserpina, fármaco que vacía las terminaciones nerviosas de noradrenalina, dió lugar a una disminución de la respuesta vasoconstrictora a 5-HT que fue significativa tan solo en la primera dosis ($P < 0.05$; Fig. 12).

5. Curvas dosis-respuesta a histamina:

La administración de dosis crecientes de histamina al baño produjo una respuesta vasoconstrictora que fue dosis-dependiente. La contracción máxima alcanzada fue de 421 ± 54.8 mg.

5.1. Efecto de la difenhidramina sobre la curva dosis-respuesta a histamina:

Con el fin de estudiar si los receptores histaminérgicos H_1 estaban implicados en la respuesta vasoconstrictora con histamina, se realizaron curvas dosis-respuesta a esta amina en

presencia de difenhidramina ($5.7 \times 10^{-7}M$), antagonista de dichos receptores. Como se puede observar en la figura 13, con la presencia de este antagonista se obtuvo un desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta a histamina de 28.9 veces ($P < 0.05$; Tabla 8). El pA_2 para este antagonismo fue de 7.69.

6. Curvas dosis-respuesta a dopamina:

La dopamina dió lugar a respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes, alcanzándose una respuesta máxima de 373 ± 39 mg.

6.1. Influencia de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a dopamina:

Para averiguar si la respuesta obtenida con dopamina se debía a la activación de receptores alfa, se utilizó fentolamina $10^{-6}M$. Como se puede observar en la figura 14 este antagonista produjo una reducción en la respuesta a dopamina, pero que no fue significativa en ningún punto de la curva ($P > 0.05$).

6.2. Influencia del haloperidol sobre la curva dosis-respuesta a dopamina:

Cuando se utilizó haloperidol, $10^{-6}M$, antagonista específico de los receptores dopaminérgicos, se obtuvo una res-

puesta contractil menor que la observada en los segmentos controles ($P < 0.05$; Fig. 15).

7. Curvas dosis-respuesta a tiramina:

La administración de tiramina, amina simpaticomimética de acción indirecta, indujo respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes en la arteria comunicante posterior de gato. La tensión desarrollada a la máxima dosis fué de 540 ± 68 mg.

7.1. Influencia de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a tiramina:

Para comprobar si los receptores alfa adrenérgicos estaban implicados en la respuesta obtenida con tiramina se utilizó fentolamina 10^{-6} M. Como se puede observar en la figura 16 la respuesta contráctil disminuyó en todas las dosis utilizadas ($P < 0.01$). El valor del desplazamiento de la curva control producido por fentolamina fue de 2.80 (Tabla 4).

7.2. Influencia del tratamiento con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a tiramina:

El tratamiento previo de los animales con reserpina, fármaco que vacía las terminaciones nerviosas vasculares de noradrenalina, dió lugar a una disminución de la respuesta vasoconstrictora inducida por tiramina, que solo fue significativa en las 4 primeras dosis ($P < 0.02$; Fig. 17). El valor de la

DE₅₀ no se modificó con la reserpinización (Tabla 4).

7.3. Efecto de la denervación crónica en la curva dosis-respuesta a tiramina:

A un grupo de animales se les extirpó ambos ganglios cervicales superiores para producir la degeneración crónica de las terminaciones nerviosas perivasculares. Los segmentos vasculares procedentes de estos animales presentaron una disminución significativa en la respuesta contráctil inducida por tiramina, excepto en la primera dosis ($P < 0.02$; Fig. 18), sin embargo la DE₅₀ no se alteró (Tabla 4).

8. Estimulación eléctrica de campo de la arteria comunicante posterior:

La estimulación eléctrica de campo produjo un incremento de tensión, dependiente de la frecuencia. A 32 Hz, máxima frecuencia utilizada, experimentó un incremento de tensión de 365 ± 37.6 mg.

Para estudiar los posibles mecanismos adrenérgicos implicados en la contracción del vaso se hicieron los experimentos que a continuación se detallan:

8.1. Efecto de la tetrodotoxina (TTX) sobre la curva frecuencia-respuesta:

La tetrodotoxina ($3 \times 10^{-6}M$), fármaco que bloquea la entrada de sodio y por tanto la propagación del potencial de acción, dió lugar a una reducción en la respuesta vasoconstrictora frente al estímulo eléctrico (Fig. 19), que fue significativa a todas las frecuencias ($P < 0.02$).

8.2. Influencia del bretilium sobre la curva frecuencia-respuesta:

Se utilizó bretilium ($5 \times 10^{-4}M$), fármaco bloqueante neuronal adrenérgico, para impedir la liberación del neurotransmisor adrenérgico. Como aparece reflejado en la figura 20, el bretilium produjo una disminución significativa de la respuesta vasoconstrictora a todas las frecuencias utilizadas ($P < 0.005$).

8.3. Influencia del tratamiento con reserpina sobre la curva frecuencia-respuesta:

Los segmentos vasculares de animales, a los que se les había tratado previamente con reserpina para vaciar las terminaciones nerviosas perivasculares de noradrenalina, presentaron una reducción en la contracción inducida por estimulación eléctrica que fue significativa, con respecto a los controles,

a todas las frecuencias utilizadas, excepto a la de 1 Hz ($P < 0.05$; Fig. 21).

8.4. Influencia de la denervación crónica sobre la curva frecuencia-respuesta:

Los segmentos arteriales procedentes de animales a los que 15 días antes del experimento se les había extirpado ambos ganglios cervicales superiores para producir una degeneración crónica de las terminaciones nerviosas perivasculares, mostraron una disminución en su capacidad contráctil frente al estímulo eléctrico, que fue significativa a todas las frecuencias ($P < 0.05$; Fig. 22).

8.5. Efecto de la cocaína sobre la curva frecuencia-respuesta:

Puesto que la noradrenalina liberada de la terminación nerviosas por la estimulación eléctrica, se reincorpora en gran parte a la misma, se quiso investigar el efecto que produciría el bloqueo de dicha reincorporación con cocaína ($10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta. Como se puede observar en la figura 23 se obtuvo un pequeño aumento en la respuesta contráctil que no fué significativo en ningún punto de la curva.

8.6. Influencia de la fentolamina sobre la curva frecuencia-respuesta:

La adición de fentolamina, bloqueante de los receptores alfa adrenérgicos a una concentración de $10^{-6}M$ produjo una disminución en la respuesta contráctil inducida por la estimulación eléctrica que solo fue significativa en las 2 últimas dosis ($P < 0.05$; Fig. 24).

9. Curva dosis-respuesta a cloruro potásico (ClK):

El ClK da lugar a una depolarización de la membrana de la fibra muscular lisa la cual produce una vasoconstricción. Este agente se ha utilizado como control para comparar sus efectos contráctiles con los producidos por los demás fármacos utilizados y para indicarnos el estado funcional de la arteria. La figura 25 muestra la curva dosis-respuesta a ClK. La máxima tensión alcanzada fue de 208 ± 42.5 mg.

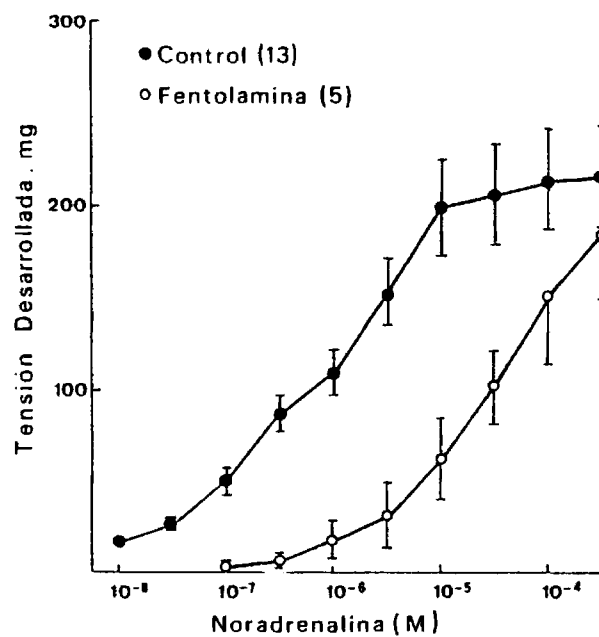


Figura 5.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a noradrenalina en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

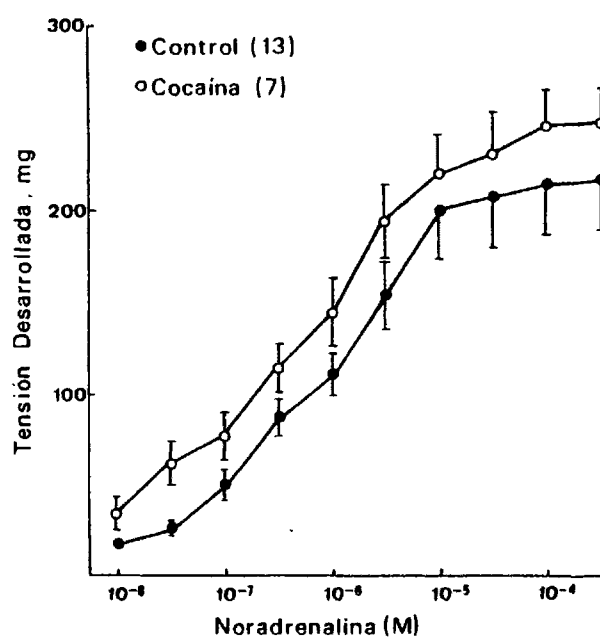


Figura 6.: Efecto de la cocaína ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a noradrenalina en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

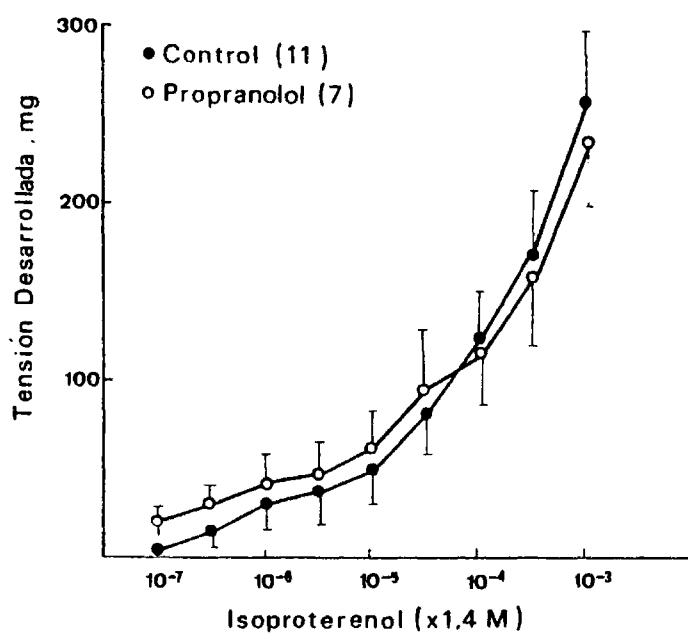


Figura 7.: Efecto del propranolol (5×10^{-9} M) sobre la curva dosis respuesta a isoproterenol en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

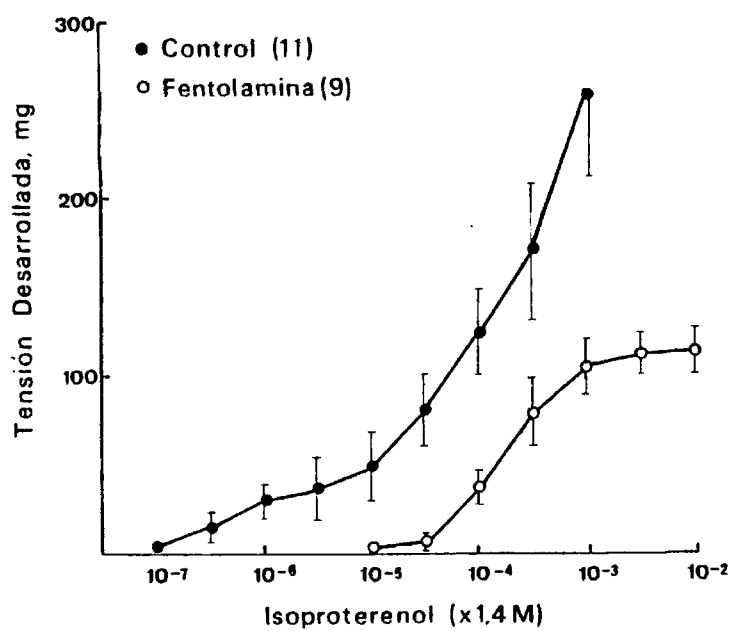


Figura 8.: Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a isoproterenol en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

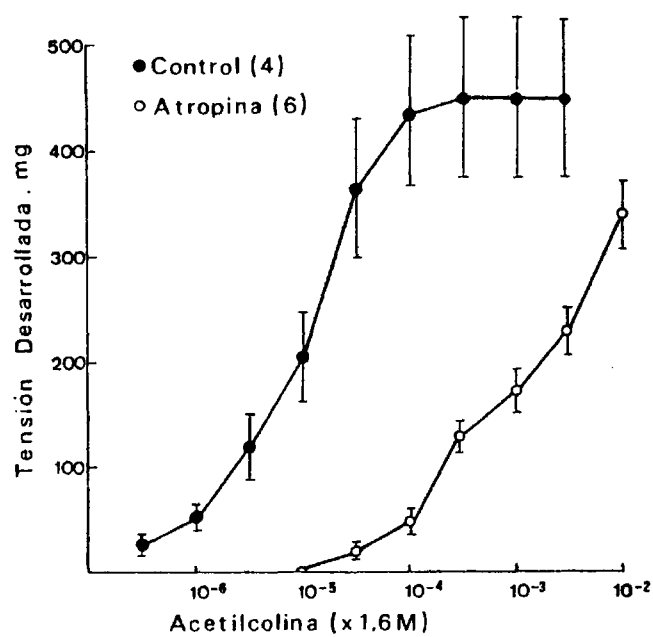


Figura 9.: Efecto de la atropina ($5 \times 10^{-9}M$) sobre la curva dosis-respuesta a acetilcolina en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

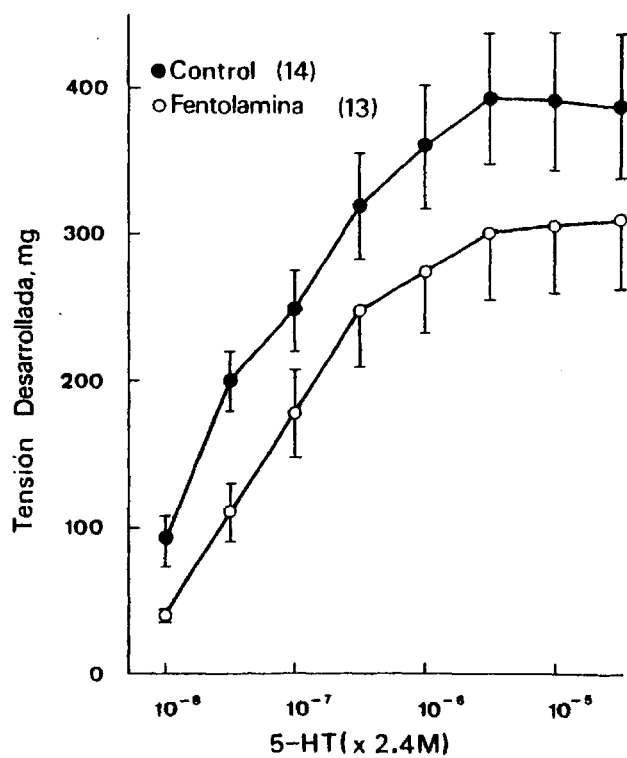


Figura 10.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis respuesta a serotonina (5-HT), en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

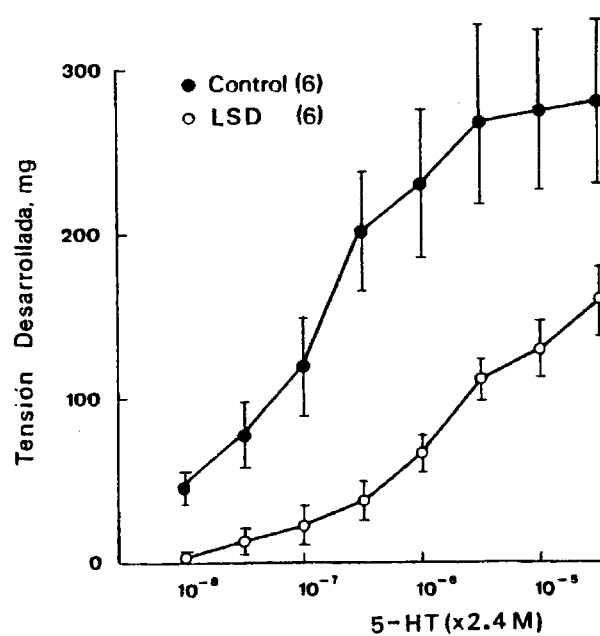


Figura 11.: Efecto del LSD (10^{-8} M) sobre la curva dosis-respuesta a serotonina (5-HT) en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

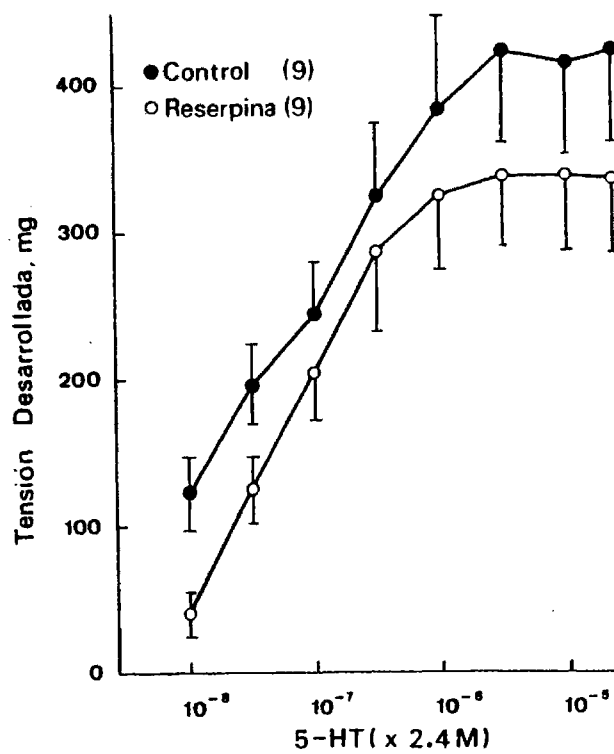


Figura 12.: Efecto del pretratamiento de los animales con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a serotonina (5-HT) en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media + ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

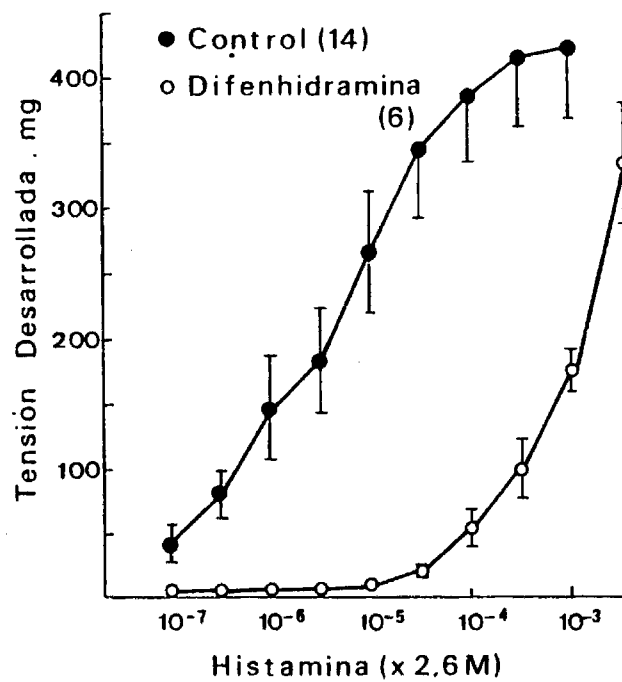


Figura 13.: Efecto de la difenhidramina (5.7×10^{-7} M) sobre la curva dosis-respuesta a histamina en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

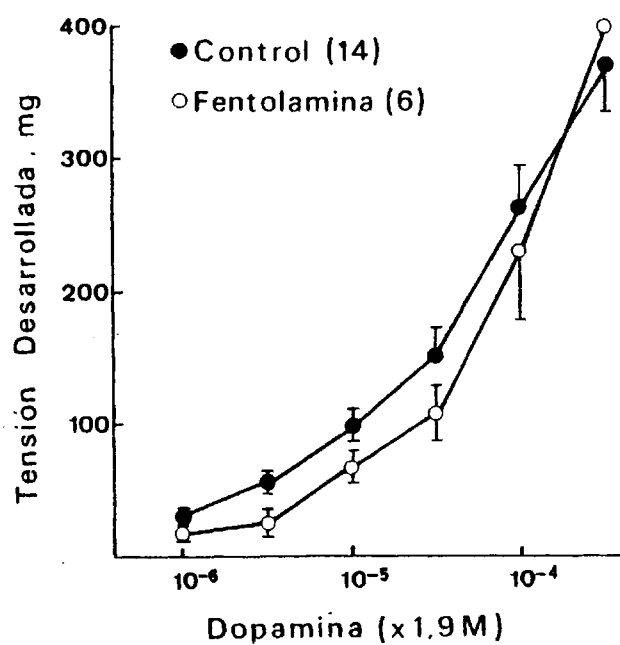


Figura 14.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a dopamina, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

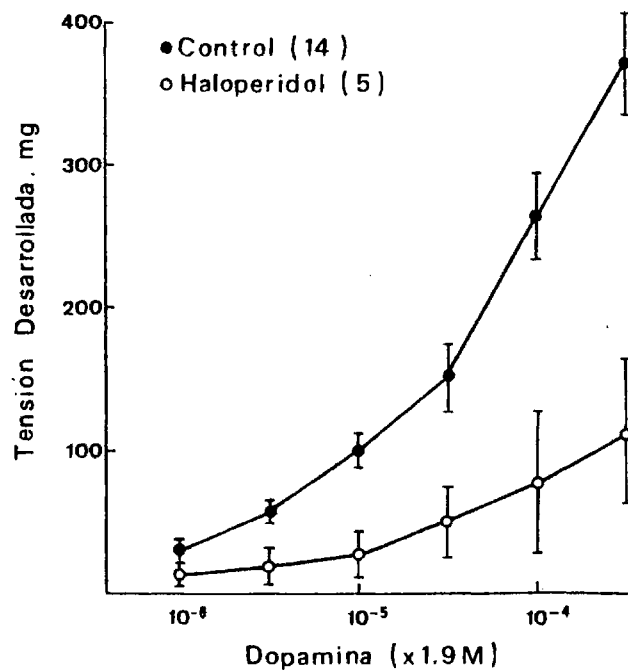


Figura 15.: Efecto del haloperidol ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a dopamina, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

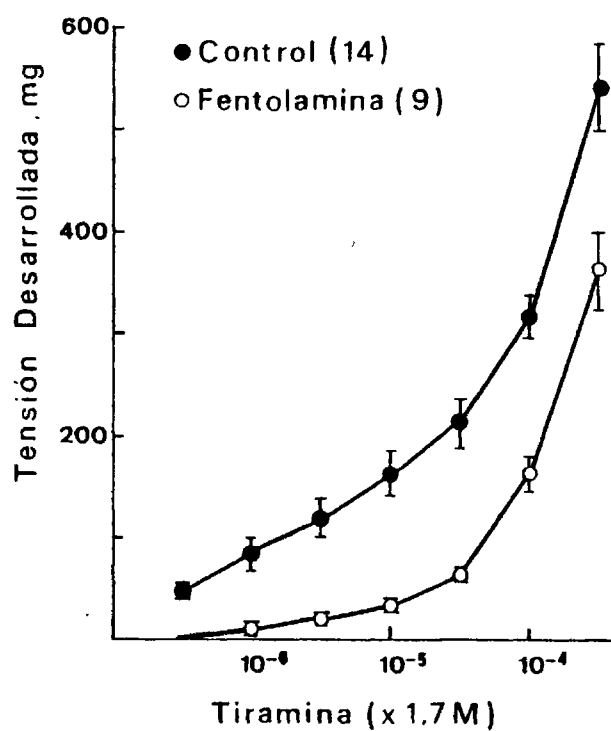


Figura 16.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a tiramina, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

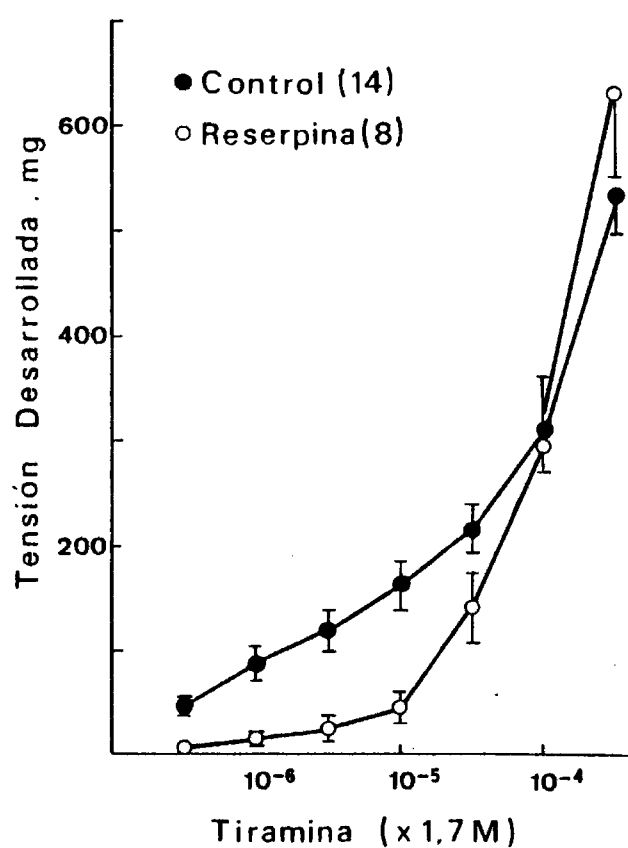


Figura 17.: Efecto del pretratamiento de los animales con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a tiramina, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

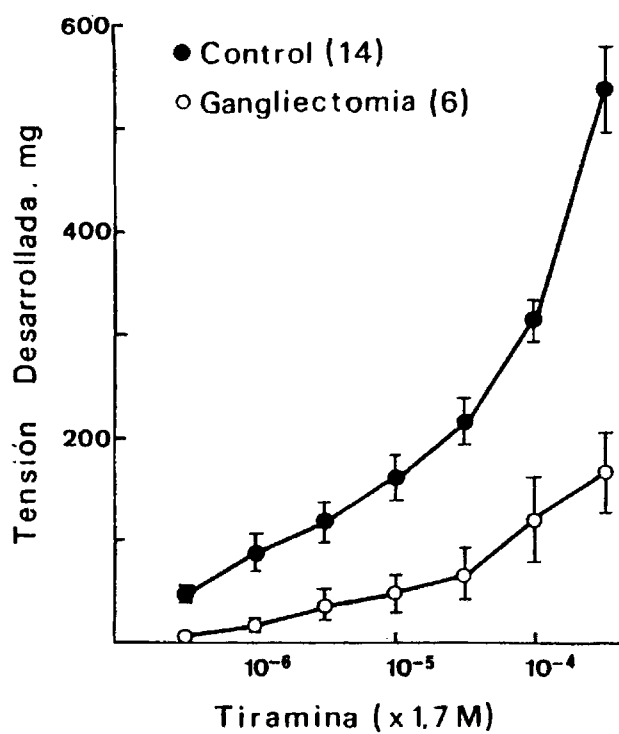


Figura 18.: Efecto de la extirpación de ambos ganglios simpáticos cervicales superiores, 15 días antes de proceder al experimento, sobre la curva dosis-respuesta a tiramina, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

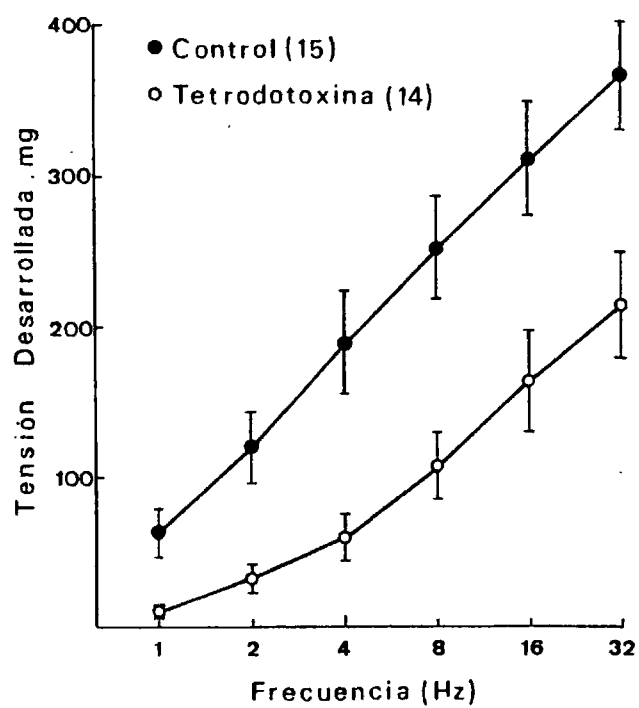


Figura 19.: Efecto de la tetrodotoxina ($3 \times 10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

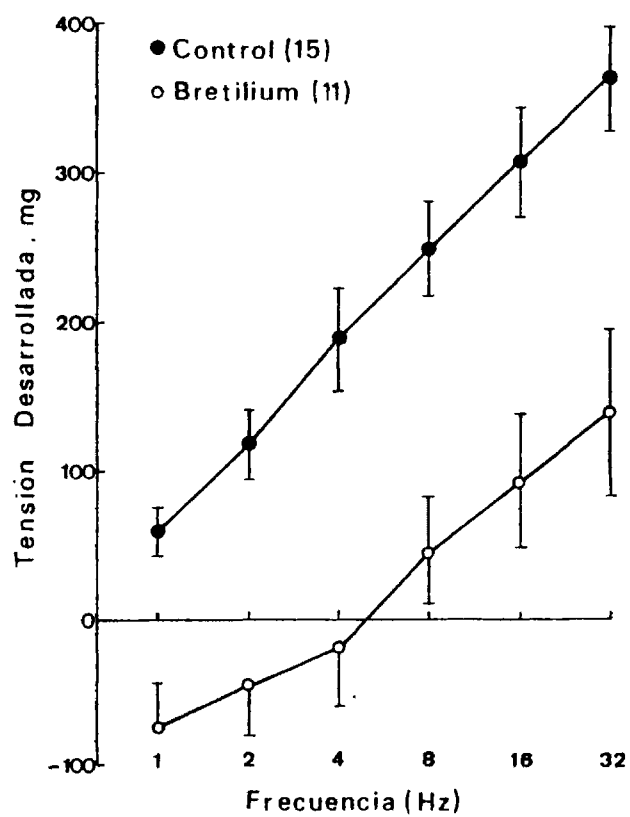


Figura 20.: Efecto del bretilium ($5 \times 10^{-4}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

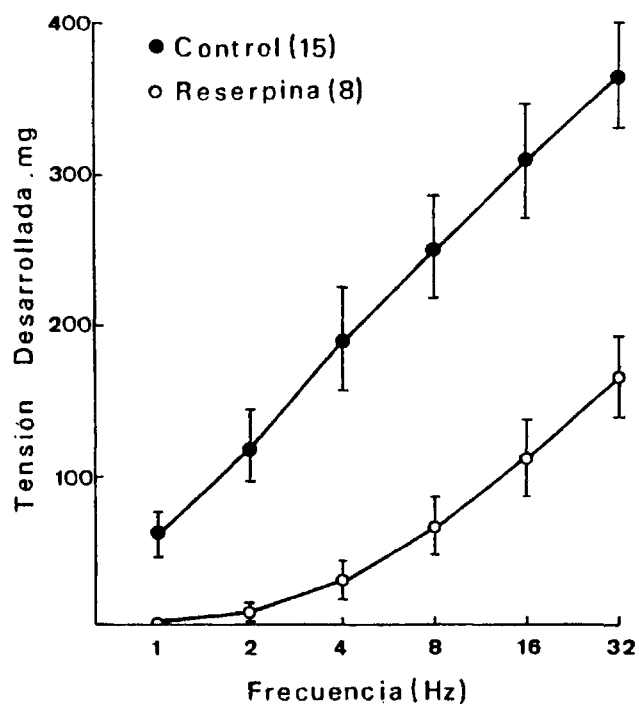


Figura 21.: Efecto del pretratamiento de los animales con reserpina sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

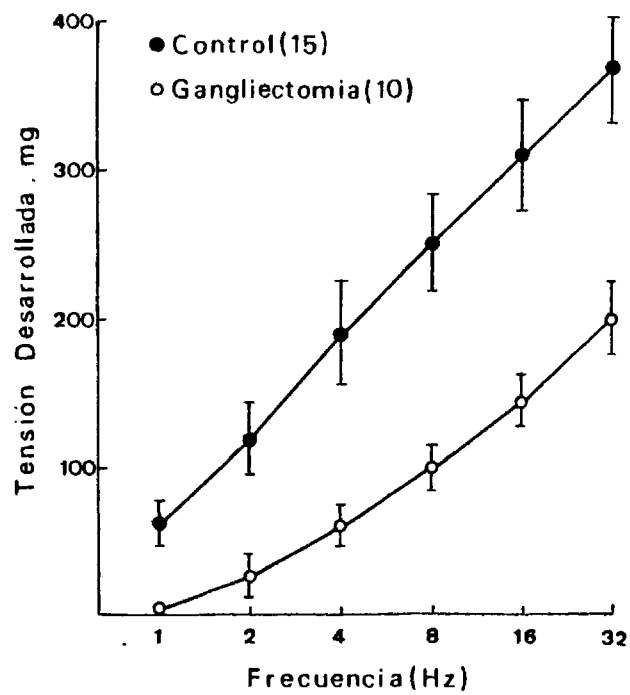


Figura 22.: Efecto de la extirpación de ambos ganglios simpáticos cervicales superiores, 15 días antes de proceder al experimento sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

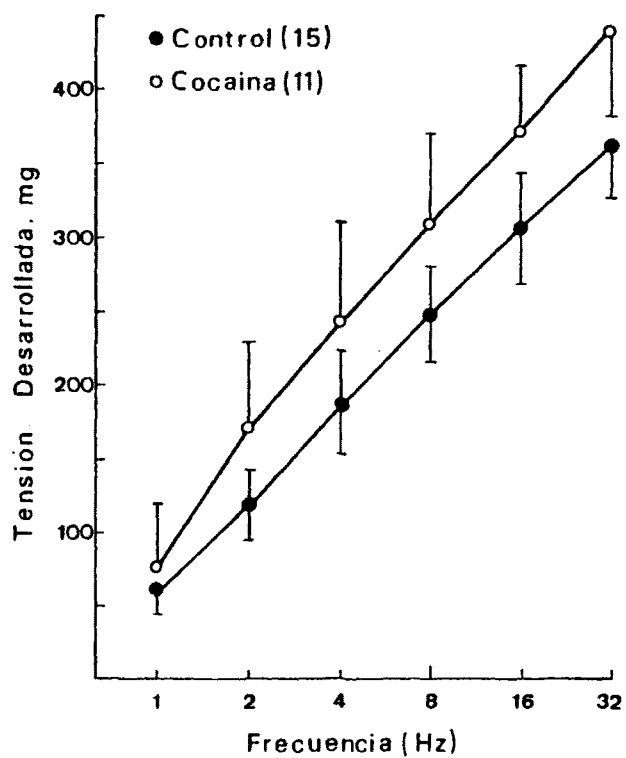


Figura 23.: Efecto de la cocaína ($10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia respuesta en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

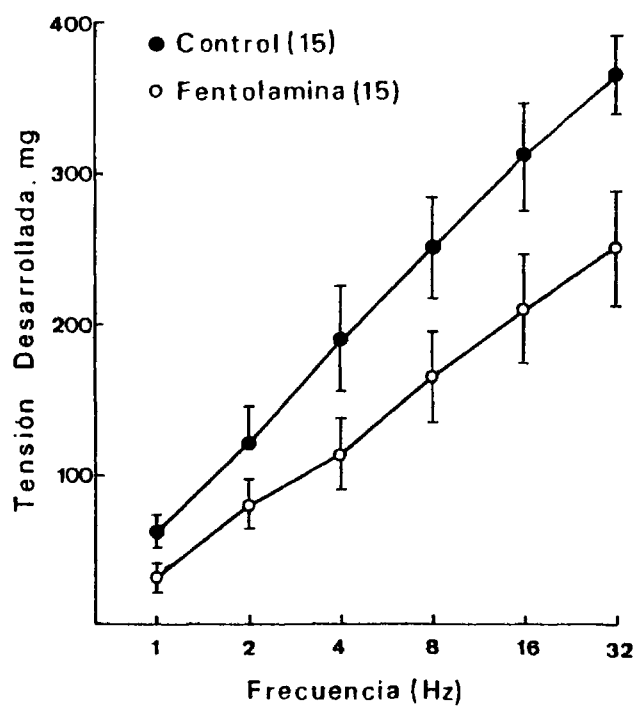


Figura 24.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

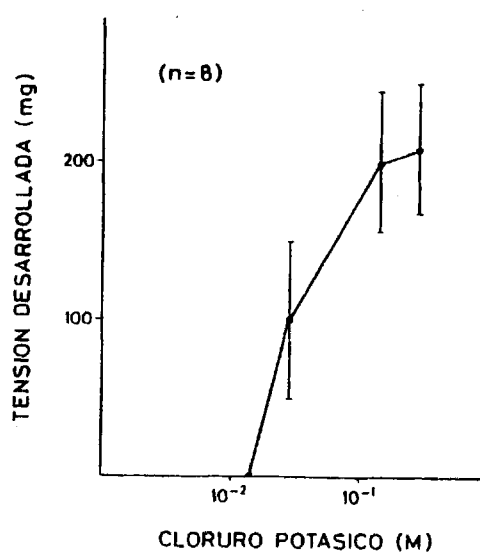


Figura 25.: Curva dosis-respuesta a cloruro potásico en la arteria comunicante posterior de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

B) ARTERIA FEMORAL DE GATO

1. Curvas dosis-respuesta a noradrenalina:

La noradrenalina produjo respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes en estas arterias. La máxima tensión alcanzada fue de 2.330 ± 194 mg.

1.1. Influencia de la fentolamina en la curva dosis-respuesta a noradrenalina:

Se realizaron curvas dosis-respuesta a noradrenalina en presencia de fentolamina 10^{-6} M para analizar la participación de los receptores alfa en la respuesta vasoconstrictora a dicha amina. Como se puede observar en la figura 26 y tabla 8 con este bloqueante, se obtuvo un desplazamiento paralelo de la curva de 38 veces sin afectar a la respuesta máxima ($P < 0.05$).

1.2. Efecto de la cocaína sobre la curva dosis-efecto a noradrenalina:

La respuesta a noradrenalina no se vió afectada, cuando se bloqueó la reincorporación de noradrenalina a la terminación nerviosa con cocaína 10^{-6} M (Fig. 27).

2. Curvas dosis-respuesta a isoproterenol:

En 10 casos de 21 la respuesta de las arterias femorales a isoproterenol fue vasoconstrictora en el resto, o no se obtuvo respuesta o una ligera vasodilatación. La máxima tensión desarrollada en esos 10 casos fue de 1.304 ± 216 mg.

2.1. Efecto del propranolol en la curva dosis-efecto a isoproterenol:

Se utilizó propranolol $5 \times 10^{-9}M$ para estudiar la posible participación de los receptores beta en la respuesta vasoconstrictora obtenida con isoproterenol. Como aparece reflejado en la figura 28 con este antagonista se obtuvo una disminución en la respuesta vasoconstrictora, que no fue significativa en ningún punto de la curva. Incluso aumentando la dosis de propranolol hasta $10^{-6}M$ no obtuvimos variación significativa en la curva dosis-respuesta a isoproterenol.

2.3. Efecto de la fentolamina sobre la curva dosis-efecto a isoproterenol:

Cuando se utilizó fentolamina $10^{-6}M$ se obtuvo un desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta hacia la derecha ($P < 0.05$; Fig. 29). El valor de pA_2 para esta antagonismo fue de 6.82 (Tabla 8).

3. Curvas dosis-respuesta a acetilcolina:

En este tipo de arterias únicamente se encontraron respuestas vasodilatadoras con acetilcolina, alcanzándose una vasodilatación máxima de $-185 \pm 40 \text{ mmHg}$.

3.1. Influencia de la atropina sobre la curva dosis-respuesta a acetilcolina:

Cuando se hicieron las curvas dosis-respuesta a acetilcolina en presencia de atropina ($5 \times 10^{-9}M$), antagonista de los receptores muscarínicos, se revertió el efecto vasodilatador de la acetilcolina en este tipo de arterias, obteniéndose respuestas vasoconstrictoras. Esta diferencia de respuesta, en presencia y en ausencia de atropina, fue significativa a todas las dosis utilizadas ($P < 0.01$; Fig. 30).

4. Curvas dosis-respuesta a serotonina:

La serotonina dió lugar a respuestas contráctiles dosis-dependientes, alcanzándose una contracción máxima de 1.506 ± 140 mg.

4.1. Efecto de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a serotonina:

Con el fin de estudiar la influencia del bloqueo de los receptores alfa-adrenérgicos en las respuestas inducidas por serotonina, se hicieron curvas dosis-respuesta en presencia de fentolamina ($10^{-6}M$). Como se puede apreciar en la figura 31, se obtuvo una disminución significativa de las respuestas vasoconstrictoras a serotonina a todas las dosis utilizadas ($P < 0.05$).

4.2. Influencia del LSD sobre la curva dosis-respuesta a 5-HT:

Para estudiar el papel de los receptores serotoninérgicos en la respuesta obtenida con 5-HT, se utilizó LSD $10^{-8}M$. Este antagonista produjo una reducción significativa en todos los puntos de la curva ($P < 0.002$; Fig. 32).

4.3. Efecto de la fentolamina y LSD sobre la curva dosis-respuesta a serotonina:

La presencia de fentolamina $10^{-6}M$ junto con LSD $10^{-8}M$ en el baño, con el fin de bloquear simultáneamente los receptores adrenérgicos alfa y los serotoninérgicos, disminuyó significativamente la respuesta inducida por 5-HT a todas las dosis utilizadas ($P < 0.001$; Fig. 32).

4.4. Influencia del tratamiento con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a serotonina:

Los segmentos vasculares procedentes de gatos previamente tratados con reserpina presentaron una reducción en la contracción inducida por 5-HT que fue significativa, respecto a los controles, en todas las dosis utilizadas ($P < 0.001$; Fig. 34).

5. Curva dosis-respuesta a histamina:

La administración de histamina al baño produjo un incremento de tensión dosis-dependiente. La máxima tensión desarro-

llada por esta amina fué de 1.260 ± 156 mg.

5.1. Efecto de difenhidramina sobre la curva dosis-respuesta a histamina:

Se utilizó difenhidramina 5.7×10^{-7} M para estudiar el papel de los receptores H_1 en la respuesta obtenida con histamina. Como se puede observar en la figura 35 y tabla 8 difenhidramina desplazó 4.6 veces la curva control hacia la derecha sin afectar a la respuesta máxima. El valor de pA_2 para este antagonismo fue de 6.73 (Tabla 8).

6. Curvas dosis efecto a dopamina:

Con dopamina se obtuvieron respuestas vasoconstrictoras que fueron dependientes de la dosis. La respuesta máxima alcanzada fue de 1.420 ± 258 mg.

6.1. Influencia de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a dopamina:

Se utilizó fentolamina 10^{-6} M para averiguar si la respuesta obtenida con dopamina se debía a la activación de receptores alfa. Como se puede ver en la figura 36, fentolamina desplazó 3.07 veces la curva dosis-respuesta hacia la derecha, sin afectar a la respuesta máxima ($P < 0.05$).

6.2. Efecto del haloperidol 10^{-6} M sobre la curva dosis-respuesta a dopamina:

El haloperidol, antagonista específico de los receptores dopaminérgicos, no alteró significativamente la respuesta contráctil inducida por dopamina (Fig. 37).

7. Curvas dosis-respuesta a tiramina:

La tiramina, amina simpaticomimética de acción indirecta, indujo respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes. La tensión máxima desarrollada fue de 1.077 ± 101 mg.

7.1. Influencia de la fentolamina sobre la curva dosis-respuesta a tiramina:

Para estudiar la implicación de los receptores alfa adrenérgicos en la respuesta obtenida con tiramina, se utilizó fentolamina 10^{-6} M. Como se puede observar en la figura 38 y tabla 5, fentolamina desplazó hacia la derecha la curva control 2.1 veces.

7.2. Influencia del tratamiento con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a tiramina:

Los segmentos procedentes de animales previamente tratados con reserpina desarrollaron una respuesta contráctil frente a tiramina que fue significativamente menor, con respecto a los

controles, a todas las dosis, excepto a la primera ($P < 0.05$; Fig. 39). El valor de la DE_{50} en estas condiciones experimentales fue aproximadamente igual que en los controles (tabla 5).

8. Estimulación eléctrica de campo de la arteria femoral:

La estimulación eléctrica de campo de la arteria femoral de gato dió lugar a una respuesta vasoconstrictora, que fue dependiente de la frecuencia utilizada. A 32 Hz, máxima frecuencia utilizada, la tensión desarrollada fue de 889 ± 69 mg.

Para estudiar los posibles mecanismos adrenérgicos implicados en la contracción del vaso, se realizaron los experimentos siguientes:

8.1 Influencia de la tetrodotoxina sobre la curva frecuencia-respuesta:

La tetrodotoxina, fármaco que impide la propagación del potencial de acción al bloquear la entrada de sodio, produjo una reducción en la respuesta vasoconstrictora frente al estímulo eléctrico, que fue significativa a todas las frecuencias utilizadas ($P < 0.02$; Fig. 40).

8.2. Influencia del bretilium sobre la curva frecuencia-respuesta:

La estimulación eléctrica de arterias femorales en presencia de bretilium, fármaco bloqueante neuronal adrenérgico

($5 \times 10^{-4}M$), dió lugar a respuestas vasoconstrictoras significativamente menores que los controles a todas las frecuencias utilizadas ($P < 0.05$; Fig. 41).

8.3. Influencia de la reserpina sobre la curva frecuencia-respuesta:

Las arterias procedentes de animales a los que previamente se les había administrado reserpina para vaciar las terminaciones nerviosas perivasculares de noradrenalina, presentaron una respuesta frente al estímulo eléctrico significativamente menor, que las encontradas en las de animales controles, a todas las frecuencias utilizadas excepto a la primera ($P < 0.05$; Fig. 42).

8.4. Efecto de la cocaína sobre la curva frecuencia-respuesta:

La respuesta obtenida frente al estímulo eléctrico en presencia de cocaína, fármaco que bloquea la reincorporación de noradrenalina, no se diferenció significativamente de la encontrada en los experimentos controles (Fig. 43).

8.5. Efecto de la fentolamina sobre la curva frecuencia-respuesta:

Cuando se utilizó fentolamina $10^{-6}M$, para bloquear los receptores alfa adrenérgicos, se obtuvo una disminución en la respuesta vasoconstrictora que fue sólo significativa en las

4 últimas frecuencias ($P < 0.05$; Fig. 44).

9. Curva dosis-respuesta a cloruro potásico:

El cloruro potásico indujo respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes. Con $4.5 \times 10^{-1} M$, máxima concentración utilizada, se obtuvo un incremento de tensión de 1.386 ± 181 mg. (Fig. 45).

C) POTENCIAS RELATIVAS.

En la figura 46 se comparan las curvas dosis-respuesta de los distintos fármacos utilizados en la arteria comunicante posterior y en la figura 47 se representan las curvas obtenidas con los mismos agentes vasoactivos en la arteria femoral.

La tabla 2 muestra las respuestas máximas obtenidas en las arterias comunicante posterior y femoral de gato, y en la tabla 3 aparecen las DE_{50} , es decir, dosis que producen el 50% de la respuesta máxima para cada fármaco y en ambos tipos de arterias.

Como se puede observar el orden de potencias referidas a la DE_{50} en la arteria comunicante posterior fue: $5-HT \geq NA \geq Ac \geq H \geq DA \geq T \geq I \geq ClK$ y en la arteria femoral: $5-HT \geq NA \geq I \geq H \geq DA \geq T \geq ClK$. En cuanto a la actividad intrínseca ó respuesta máxima en la arteria comunicante posterior fue: $T \geq Ac \geq H \geq 5-HT \geq DA \geq I \geq NA \geq ClK$ mientras que en la arteria femoral fue:

NA > 5-HT > DA > CLK > I > H > T > Ac (I = Isoproterenol; NA = Noradrenalina; H = Histamina; Ac = Acetilcolina; DA = dopamina; T = Tiramina).

D) CONTENIDO DE NORADRENALINA EN LAS ARTERIAS CEREBRALES Y FEMORALES DE GATOS CONTROLES, GANGLIECTOMIZADOS Y RESERPINIZADOS.

La determinación de la cantidad de noradrenalina presente en ambos tipos de arterias se llevó a cabo por el método radioenzimático de Henry y col. (1975) de gran sensibilidad, ya que se pueden medir los niveles de esta amina en cantidades muy pequeñas de tejido. El contenido de noradrenalina en arterias cerebrales y femorales de gatos controles fue de 1.34 mg/g y 0.19 mg/g respectivamente, cantidad que disminuyó drásticamente en los vasos procedentes de animales gangliectomizados y reserpinizados ($P < 0.02$; Tabla, 1). Estos resultados indican la eficacia de ambos procedimientos encaminados a eliminar la actividad simpática.

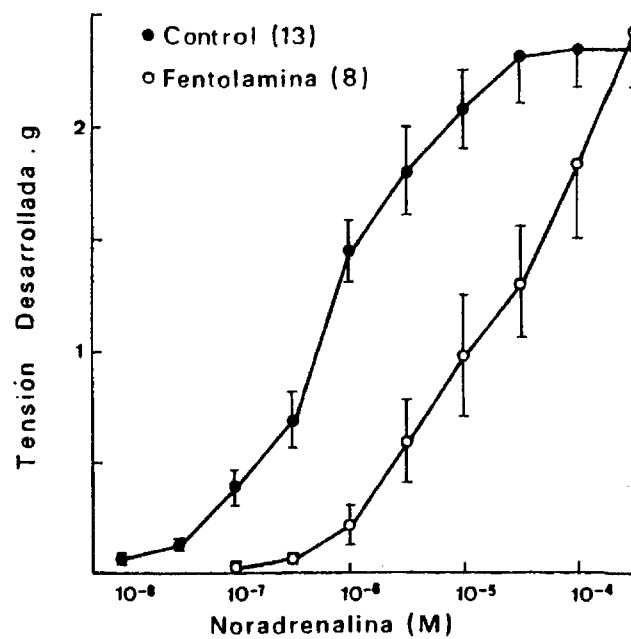


Figura 26.: Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a noradrenalina en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

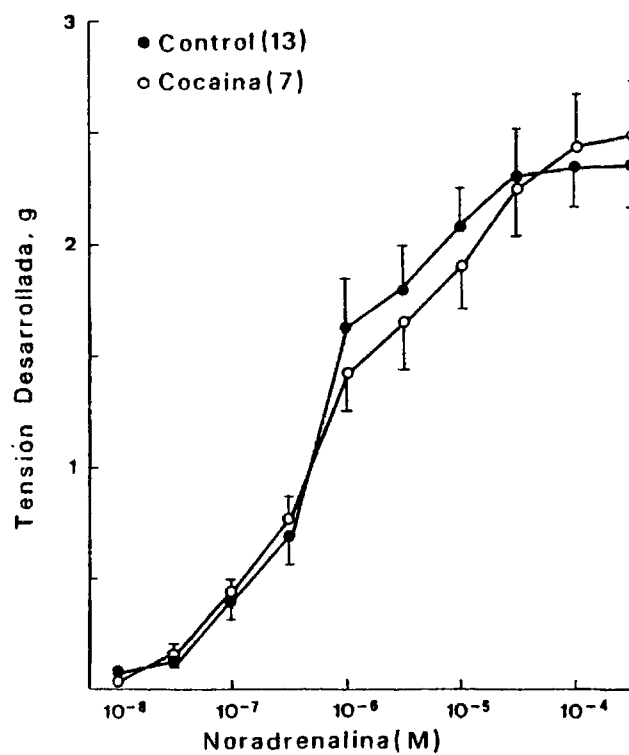


Figura 27.: Efecto de la cocaína (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a noradrenalina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

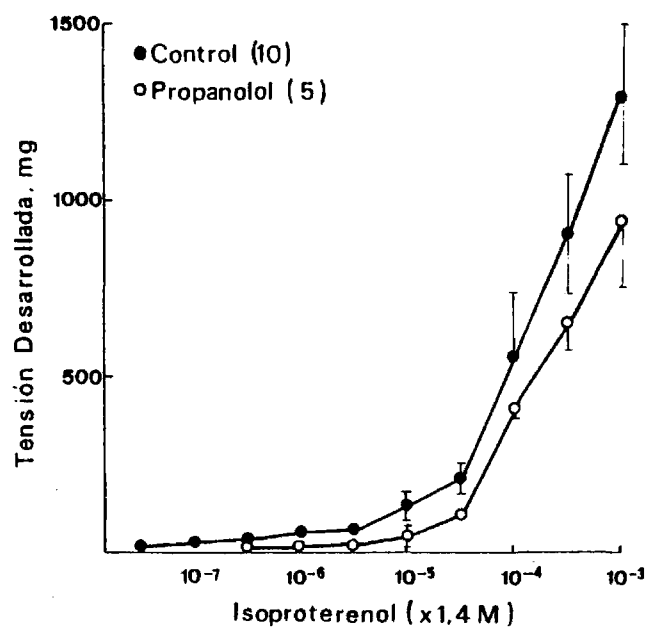


Figura 28.: Efecto del propranolol (5×10^{-9} M) sobre la curva dosis-respuesta a isoproterenol, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

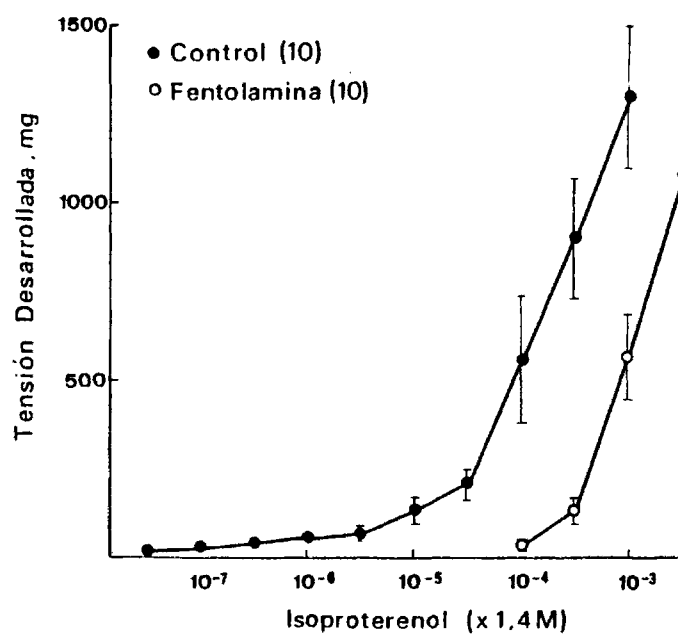


Figura 29.: Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a isoproterenol, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

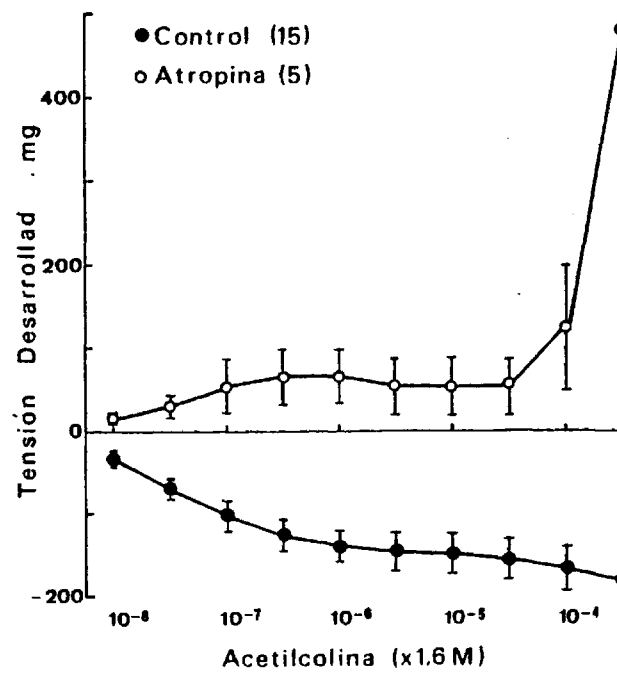


Figura 30.: Efecto de la atropina (5×10^{-9} M) sobre la curva dosis-respuesta a acetilcolina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

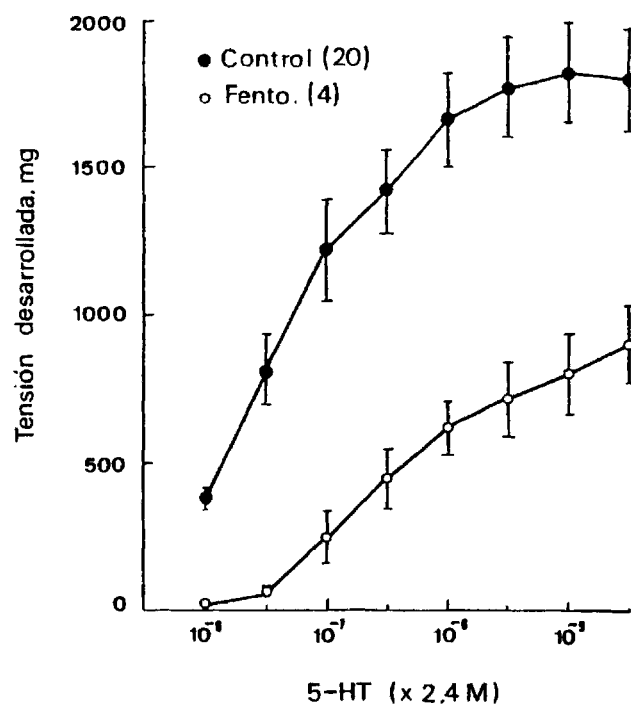


Figura 31.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a serotonina (5-HT), en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

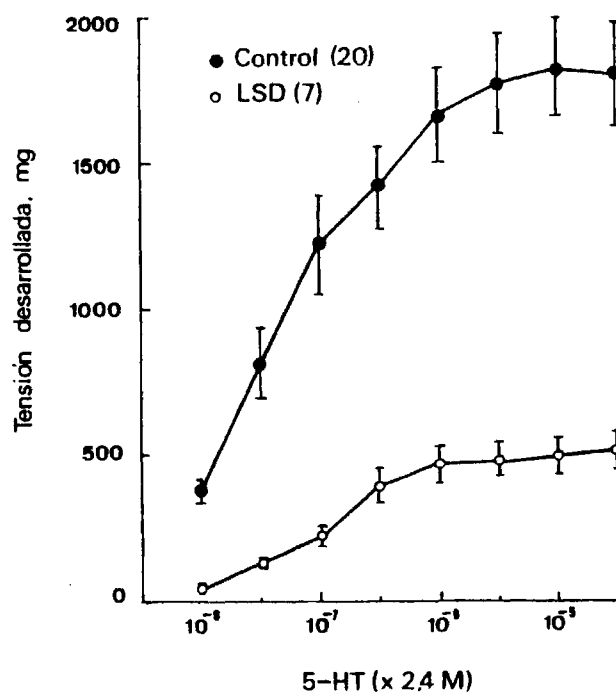


Figura 32.: Efecto del LSD (10^{-8} M) sobre la curva dosis-respuesta a serotonina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

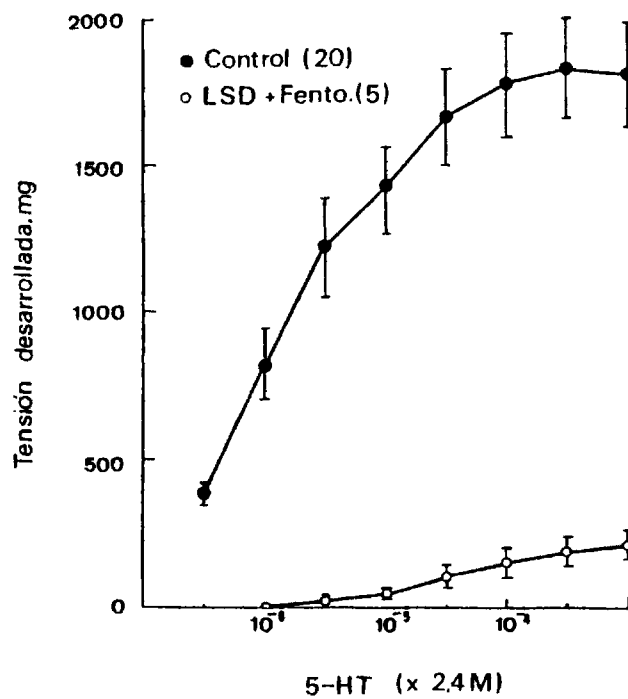


Figura 33.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) + LSD ($10^{-8}M$) sobre la curva dosis-respuesta a serotonina (5-HT) en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media + ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

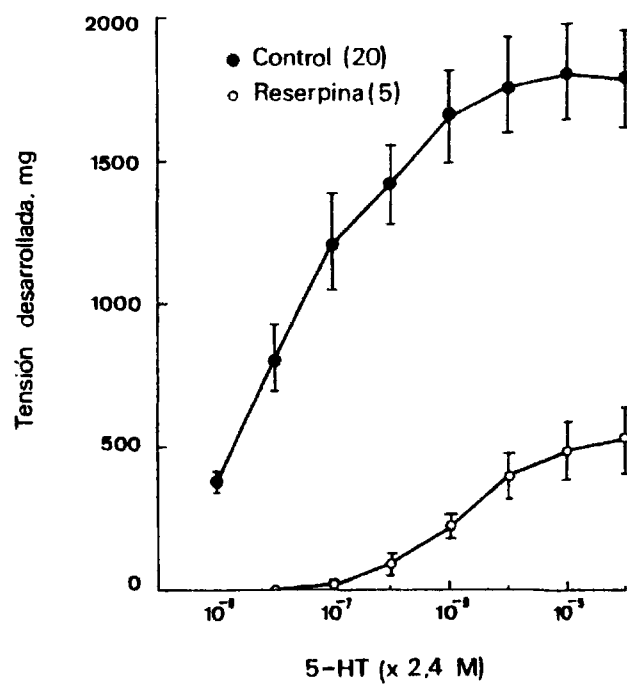


Figura 34.: Efecto del pretratamiento de los animales con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a serotonina en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media + ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

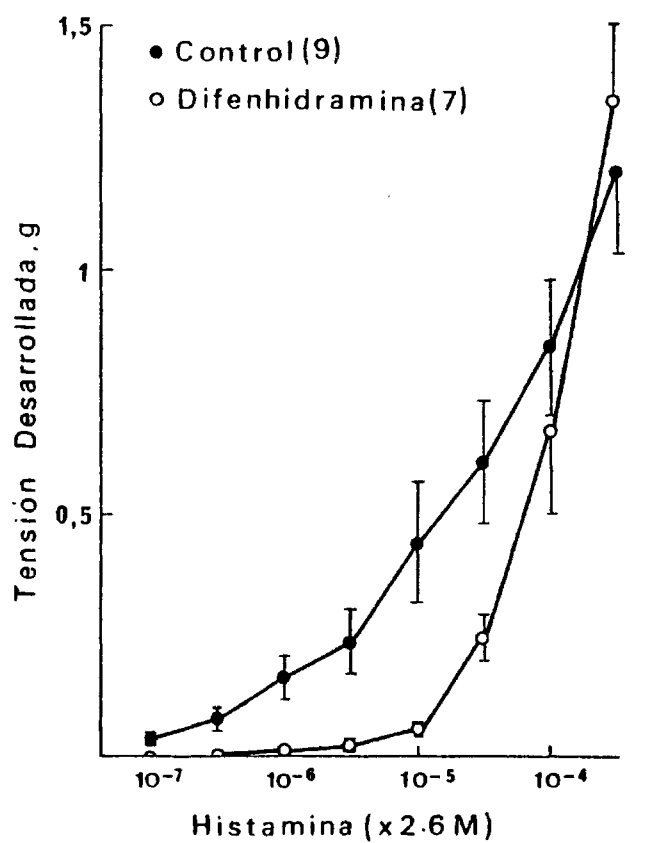


Figura 35.: Efecto de la difenhidramina (5.7×10^{-7} M) sobre la curva dosis-respuesta a histamina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

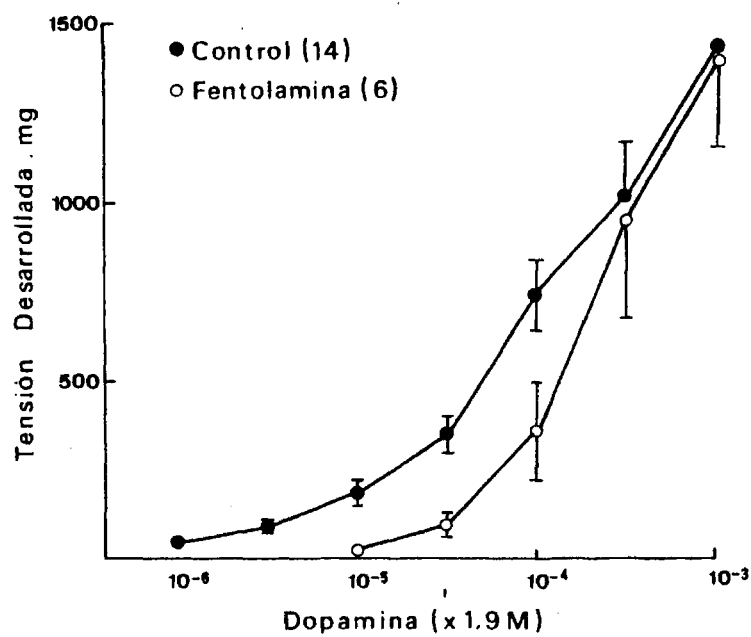


Figura 36.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6} M$) sobre la curva dosis-respuesta a dopamina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

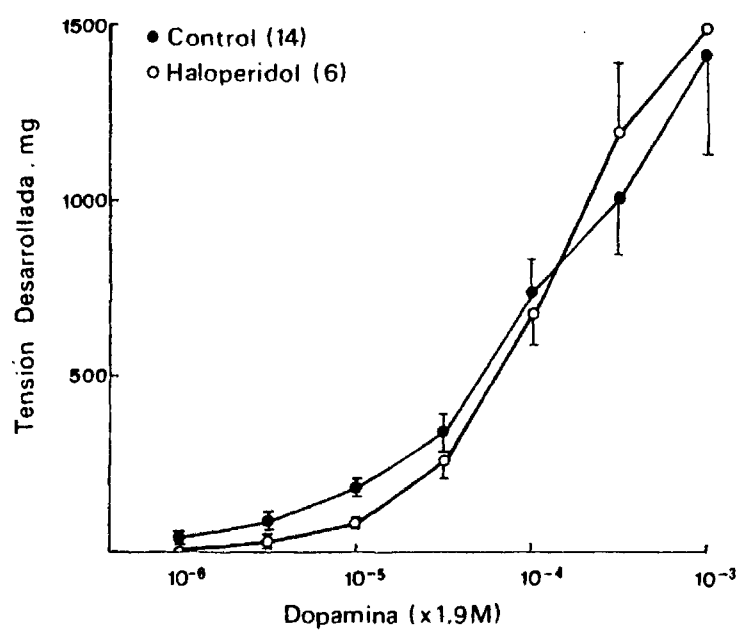


Figura 37.: Efecto del haloperidol ($10^{-6}M$) sobre la curva dosis-respuesta a dopamina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

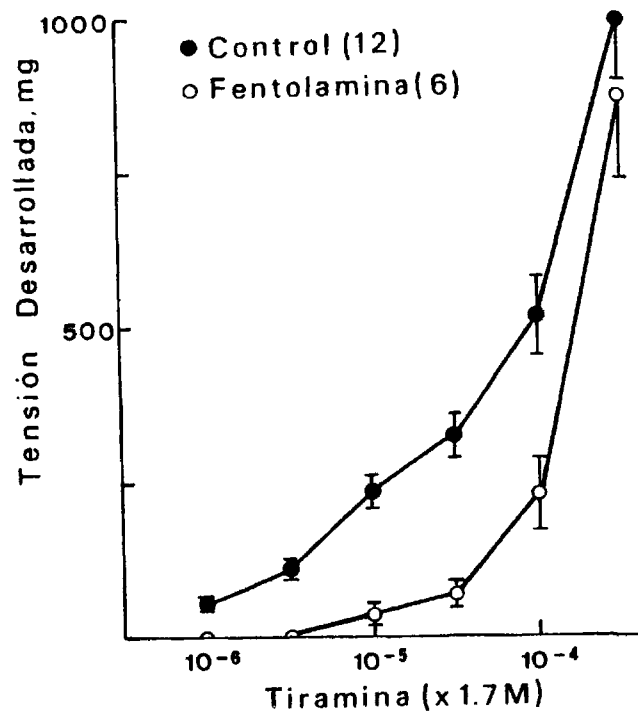


Figura 38.: Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a tiramina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

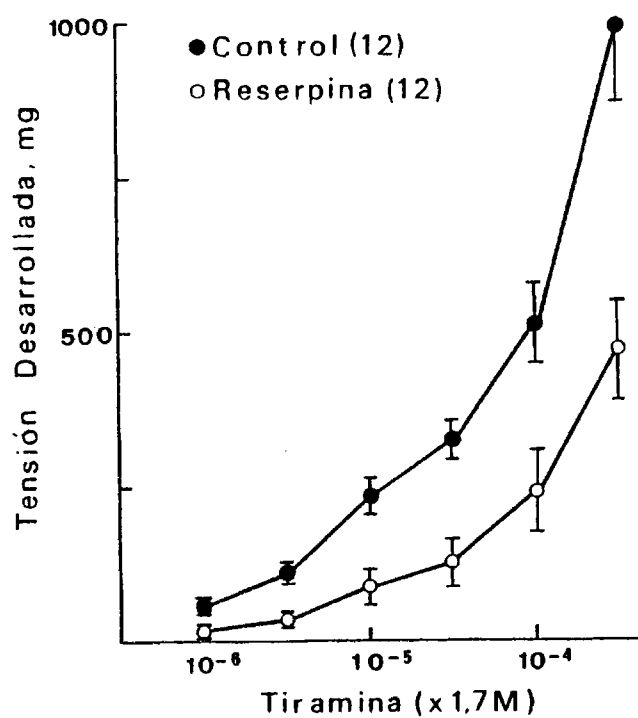


Figura 39.: Efecto del pretratamiento de los animales con reserpina sobre la curva dosis-respuesta a tiramina, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

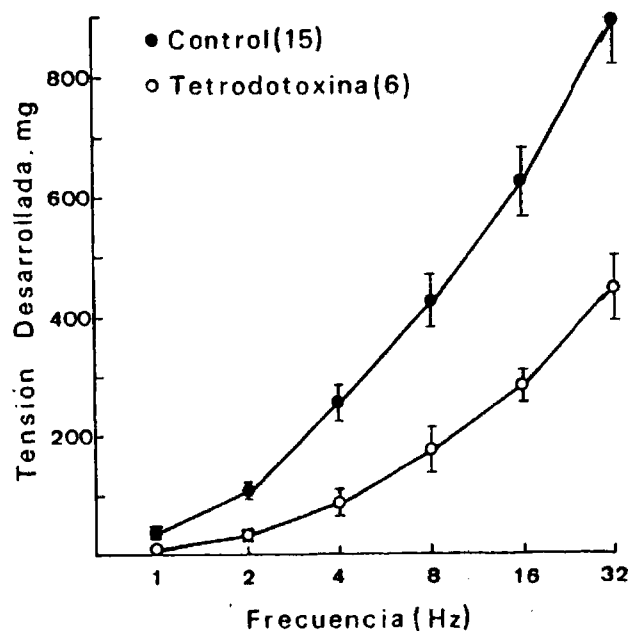


Figura 40.: Efecto de la tetrodotoxina ($3 \times 10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.



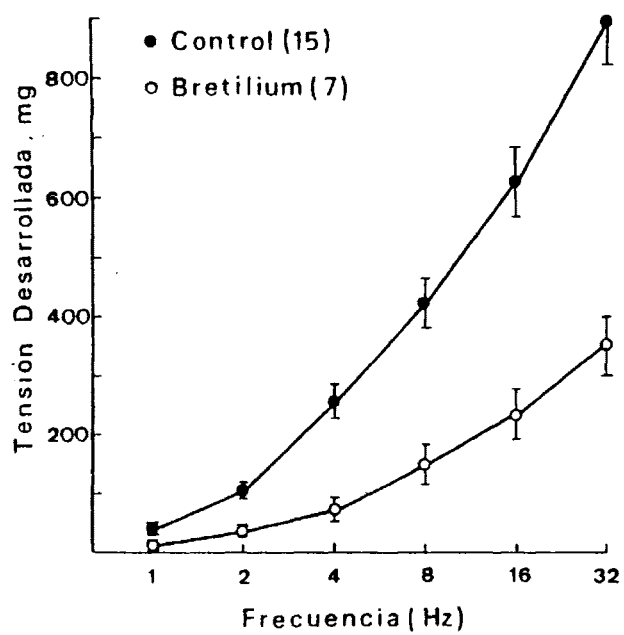
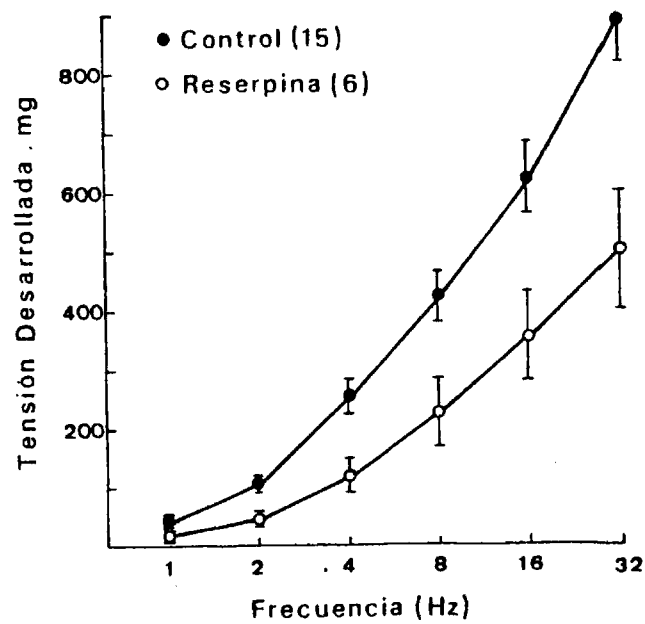


Figura 41.: Efecto del bretilium ($5 \times 10^{-4} M$) sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.



-Figura 42.: Efecto del pretratamiento de los animales con reserpina sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media + ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

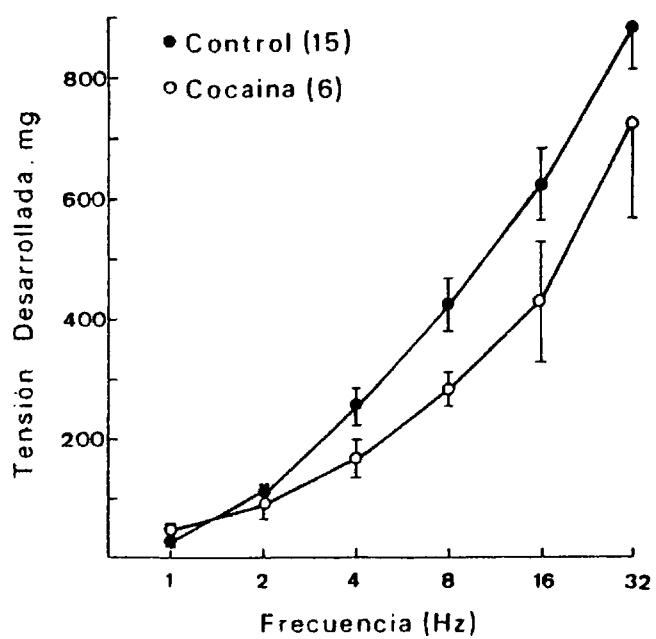


Figura 43.: Efecto de la cocaína ($10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media + ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

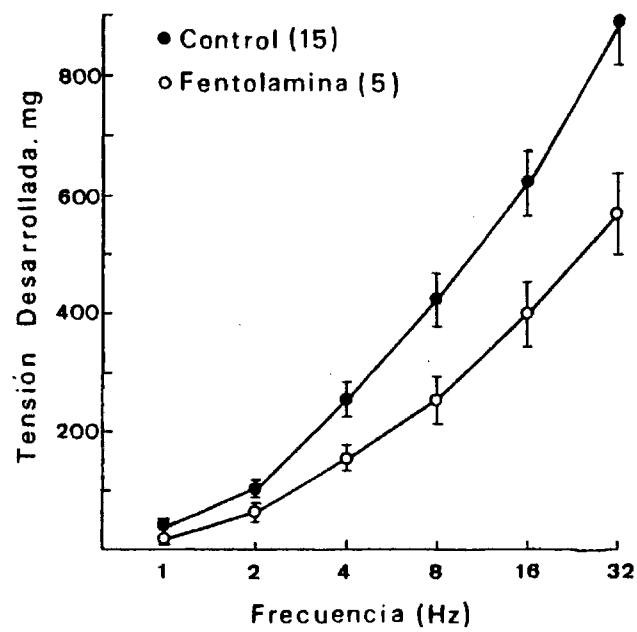


Figura 44.: Efecto de la fentolamina ($10^{-6}M$) sobre la curva frecuencia-respuesta, en la arteria femoral de gato. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

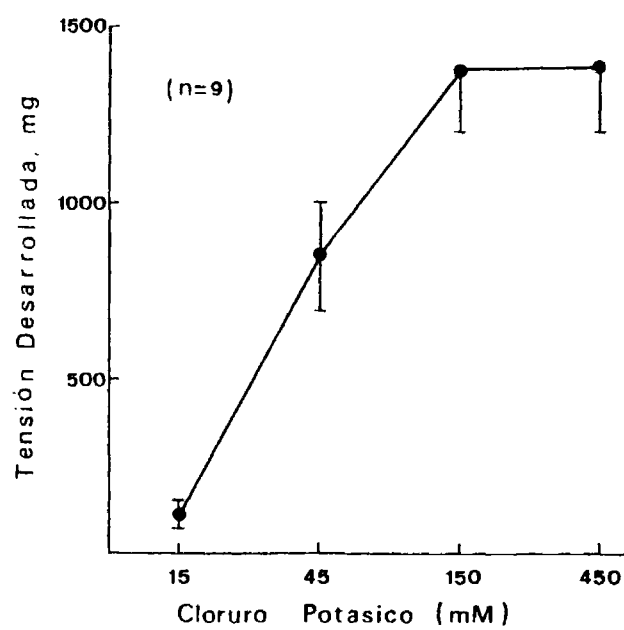


Figura 45.: Curva dosis-respuesta a cloruro potásico. Cada punto representa la media \pm ES. Los números entre paréntesis indican los segmentos empleados para realizar la curva.

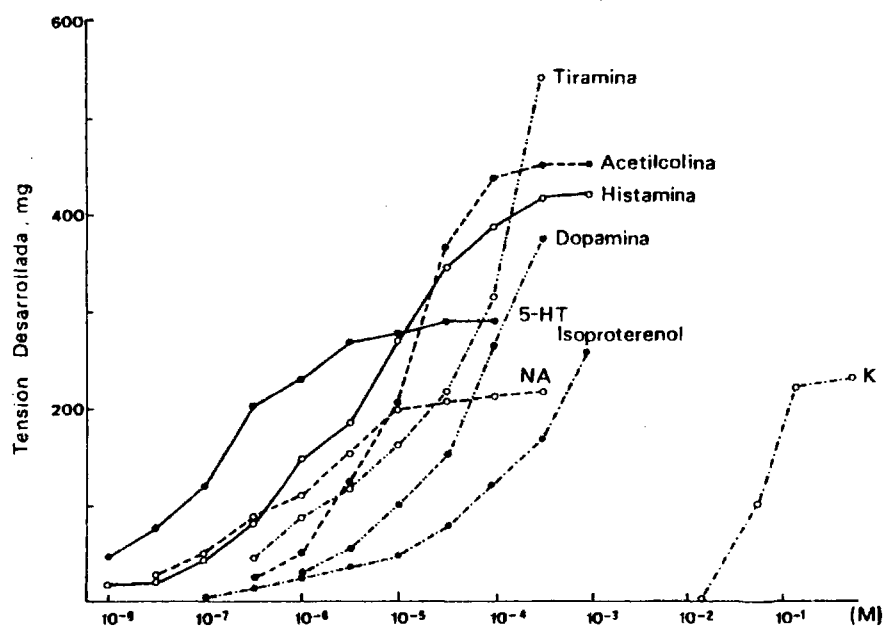


Figura 46.: Comparación de las curvas dosis-respuesta a nora
drenalina, isoproterenol, acetilcolina, 5-hidro-
xitriptamina, histamina, dopamina, tiramina y
coloruro potásico, en la arteria comunicante pos
terior de gato.

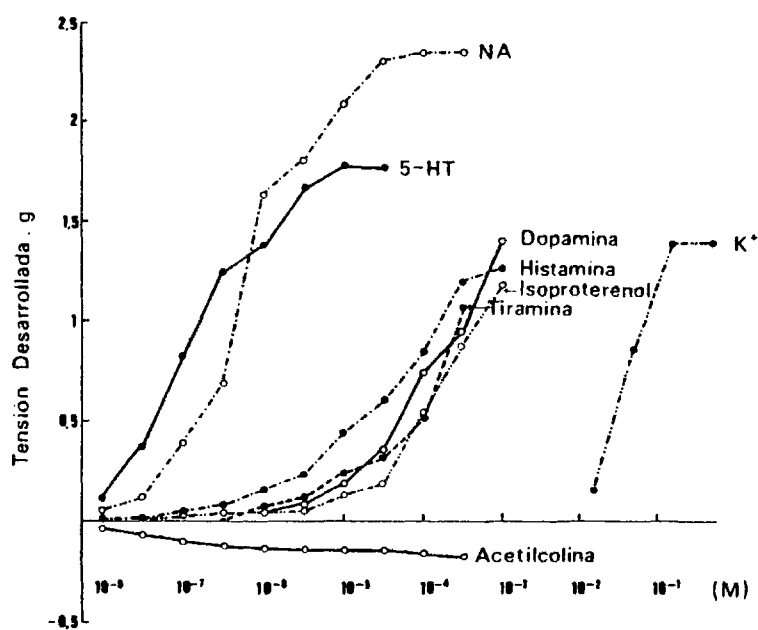


Figura 47.: Comparación de las curvas dosis-respuesta a nora-drenalina, isoproterenol, acetilcolina, 5-hidro-xitriptamina, histamina, dopamina, tiramina y cloruro potásico, en la arteria femoral de gato.

TABLA 1.: Contenido de noradrenalina en arterias cerebrales y femorales de gatos controles, reserpinizados y gangliectomizados. Los números entre paréntesis indican el número de experimentos realizados

SITUACION	CONTENIDO DE NORADRENALINA ($\mu\text{g/g}$)	
	Cerebrales	Femorales
Control	1.34 ± 0.22 (5)	0.19 ± 0.02 (3)
Reserpina	$0.21 \pm 0.6 *$ (3)	$0.01 \pm 0.01*$ (3)
Gangliectomía	$0.22 \pm 0.05 *$ (4)	—

* $P < 0.02$

TABLA 2.: Respuestas máximas obtenidas con los fármacos
utilizados en la arteria comunicante posterior
(ACP) y femoral de gato.

AGONISTA	MAXIMA RESPUES mg \pm ES	
	ACP	Femoral
Noradrenalina	216 \pm 27	2330 \pm 194
Isoproterenol	258 \pm 49.3	1304 \pm 216
Acetilcolina	450 \pm 78	-185 \pm 40
Serotonina	385 \pm 48	1797 \pm 171
Histamina	421 \pm 59.8	1260 \pm 156
Dopamina	373 \pm 39	1420 \pm 258
Tiramina	540 \pm 68	1077 \pm 101
Cloruro potásico	208 \pm 42.5	1386 \pm 181

ES = Error standard.

TABLA 3.: Dosis que producen el 50% de la respuesta máxima (DE_{50}) para los distintos fármacos utilizados en las arterias comunicante posterior (ACP) y femoral de gato/95% límites de confianza. Según el método de Fleming y col. (1972).

AGONISTA	ACP	FEMORAL
Serotonina	4.46×10^{-7} (1.58-12.48) 10^{-7}	2.808×10^{-7} (1.92-4.08) 10^{-7}
Noradrenalina	6.3×10^{-7} (3.53-11.1) 10^{-7}	7.07×10^{-7} (4.9-10.2) 10^{-7}
Histamina	2.06×10^{-5} (1.1 - 3.6) 10^{-5}	7.67×10^{-5} (3.14-18) 10^{-5}
Isoproterenol	1.3×10^{-4} (0.89-2.4) 10^{-4}	1.505×10^{-5} (0.82-2.55) 10^{-5}
Acetilcolina	1.7×10^{-5} (1.2 - 2.4) 10^{-5}	1.3×10^{-7} (0.69-2.73) 10^{-7}
Dopamina	6.25×10^{-5} (3.03-7.53) 10^{-5}	1.27×10^{-4} (0.88 - 1.8) 10^{-4}
Tiramina	9.06×10^{-5} (7.73-14.04) 10^{-5}	1.3×10^{-4} (0.8 - 2.24) 10^{-4}
CIK	7.07×10^{-2} (4.3 - 11) 10^{-2}	3.8×10^{-2} (2.7 - 5.4) 10^{-2}

TABLA 4.: Efecto de la fentolamina, reserpina y gangliectomía cervical superior sobre la DE_{50} y la tensión máxima inducida por tiramina en arterias cerebrales. ES: Error standard.

	Tensión máxima mg \pm ES	DE_{50} (95% límites de confianza)	$\frac{DE_{50} \text{ experim.}}{DE_{50} \text{ control}}$	Nº experimentos
Control	543 \pm 44	5.24×10^{-5} (0.67 - 1.6) 10^{-5}		13
Fentolamina	364 \pm 42	1.47×10^{-4} (0.81 - 2.6) 10^{-4}	2.80	9
Reserpina	633 \pm 97	6.9×10^{-5} (5.3 - 8.9) 10^{-5}	1.31	8
Gangliectomía	168 \pm 41	3.5×10^{-5} (1.25 - 10^{-1}) 10^{-5}	0.66	6

TABLA 5.: Efecto de la fentolamina y reserpina sobre la DE_{50} y la respuesta máxima inducida por tiramina en arterias femorales. ES: Error standard.

	Tensión Máxima mg \pm ES	DE_{50} (95% límites de confianza)	$\frac{DE_{50} \text{ experim.}}{DE_{50} \text{ control}}$	Nº expe- rimentos
Control	1077 \pm 198	7.58×10^{-5} (5.03 - 11.4) 10^{-5}		12
Fentolamina	880 \pm 210	1.54×10^{-4} (1.35 - 1.77) 10^{-4}	2.1	6
Reserpina	473 \pm 83	8.7×10^{-5} (6.27 - 12) 10^{-5}	1.01	12

TABLA 6.: Efecto de la fentolamina, reserpina y LSD sobre la DE_{50} y la respuesta máxima inducida por 5-HT en arterias cerebrales. ES = Error standard.

	Tensión máxima mg \pm ES	DE_{50} (95% límites de confianza)	$\frac{DE_{50} \text{ experim.}}{DE_{50} \text{ control}}$	Nº exp- rimentos
Control	385 \pm 58	7.58×10^{-7} (0.58-12) 10^{-7}		
Fentolamina	309.6 \pm 47	1.6×10^{-7} (1.15-2.23) 10^{-7}	0.36	13
LSD	160 \pm 22	1.6×10^{-6} (0.8 - 2.9) 10^{-6}	3.6	6
Reserpina	330 \pm 49.5	1.22×10^{-7} (0.57-2.4) 10^{-7}	0.27	9

TABLA 7.: Efecto de la fentolamina, reserpina y LSD sobre la DE_{50} y la respuesta máxima inducida por 5-HT en arteria femoral de gato. ES = Error standard.

	Tensión máxima mg \pm ES	DE_{50} (95% límites de confianza)	$\frac{DE_{50} \text{ experim.}}{DE_{50} \text{ control}}$	Nº expe- rimentos
Control	1797 \pm 171	2.8×10^{-7} (1.92 - 4) 10^{-7}		20
Fentolamina	901 \pm 133	7.3×10^{-7} (4.7 - 10.4) 10^{-7}	2.5	4
LSD	507	1.8×10^{-7} (0.67 - 5.2) 10^{-7}	0.93	7
Fentolamina + LSD	124 \pm 56	1.3×10^{-5} (4.8 - 33) 10^{-5}	46	5
Reserpina	530 \pm 119	2.8×10^{-5} (2.3 - 3.6) 10^{-5}	100	5

TABLA 8.: Constante de disociación aparente (K_b), desplazamiento de la curva correspondiente (DE_{50} experimental/ DE_{50} control) y pA_2 para diferentes antagonismos competitivos en arterias comunicante posterior (ACP) y femoral de gato.

	ACP			FEMORAL		
	K_b	$\frac{DE_{50} \text{ experim.}}{DE_{50} \text{ control}}$	pA_2	K_b	$\frac{DE_{50} \text{ experim.}}{DE_{50} \text{ control}}$	pA_2
Noradrenalina-Fentolamina	1.2×10^{-8}	38	7.92	4.5×10^{-8}	20.7	7.34
Histamina-Difenhidramina	2.03×10^{-8}	28.9	7.69	1.86×10^{-8}	4.6	6.73
Acetilcolina-Atropina	1.08×10^{-10}	16.3	9.96			
Isoproterenol-Fentolamina				1.5×10^{-7}	7.58	6.82

125 hr

DISCUSSION

Para analizar comparativamente las respuestas que inducen los fármacos en los vasos, es necesario determinar una serie de parámetros básicos, tales como: DE_{50} (dosis que produce el 50% de la respuesta máxima), actividad intrínseca y PA_2 . La DE_{50} indica la afinidad del fármaco por unos receptores específicos, de tal manera que cuanto menor sea ésta, mayor afinidad va a presentar este fármaco por ellos. La actividad intrínseca de un fármaco viene medida por la respuesta máxima que es capaz de producir. Según la teoría de Clark (1933), también llamada de ocupación de receptores, existe una relación entre el número de receptores ocupados y el efecto farmacológico, siendo este máximo cuando todos los receptores esten ocupados. Posteriormente Ariëns y col. (1956) y Stephenson (1956) en forma similar sugirieron que el efecto de un fármaco es proporcional a la concentración del complejo fármaco-receptor pero que en última instancia depende de un factor llamado actividad intrínseca o eficacia del fármaco en cuestión. Esto nos indica que la respuesta máxima, teóricamente se alcanzará cuando todos los receptores estén ocupados por el fármaco, pero dependiendo

del factor antes mencionado, de tal manera que dos fármacos que actúen en los mismos receptores ocupándoles totalmente, aquel que tenga actividad intrínseca mayor, evocará mayor respuesta máxima. Sin embargo Furchgott (1954) ha demostrado que solo es necesario la ocupación de una fracción de los receptores totales para obtener el efecto máximo. Para caracterizar un receptor es necesario que el agonista específico del mismo induzca una respuesta característica y que esta además se disminuya o altere cuando esos receptores se bloqueen con fármacos antagonistas de los mismos. Cuando el antagonismo es competitivo, se produce un desplazamiento de la curva dosis respuesta hacia la derecha y solo en estas circunstancias se puede hablar de un factor llamado pA_2 , que nos indica la calidad y especificidad de dicho antagonismo.

Se define el pA_2 como el logaritmo negativo de la concentración molar de antagonista que hace necesario multiplicar por 2 la dosis de agonista para lograr un efecto similar al que se obtendría en ausencia de antagonista (Schild, 1947). Esto nos indica que si el pA_2 para un determinado antagonista es similar en varios tejidos, los receptores también serán iguales o muy parecidos, es decir que este fármaco va a actuar sobre receptores específicos. Por el contrario, si el pA_2 difiere de

un tejido a otro, nos indica que el agonista en cuestión está actuando sobre receptores diferentes en cada tejido. El cálculo del pA_2 y demás características de este parámetro fue desarrollado por Arunlakshana y Schild (1959).

En los antagonismos no competitivos, no hay desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta y no se puede hablar en estos casos de pA_2 .

Una vez definidos estos parámetros, vamos a analizar los resultados obtenidos en arterias cerebrales y periféricas de gato estudiando las analogías y diferencias entre ellas, lo que ayudará a incrementar el conocimiento de los mecanismos que controlan la circulación cerebral.

NORADRENALINA

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la noradrenalina induce una débil respuesta vasoconstrictora en la arteria comunicante posterior de gato, sobre todo si se compara con la potente respuesta observada en la arteria femoral, en donde este agonista produjo la mayor respuesta máxima (Figs. 46 y 47, Tabla 2). Sin embargo, la DE_{50} para noradrenalina es aproximadamente igual en ambos tipos de arterias, lo que indica una similar afinidad de la noradrenalina por los receptores alfa de los dos vasos, aunque la actividad intrínseca

es diferente. Esta escasa respuesta a la noradrenalina también ha sido obtenida por otros investigadores, en arterias cerebrales de diferentes especies animales (Nielsen y Owman, 1971; Toda y Fujita, 1973; Urquilla y col., 1975; Edvinsson y col., 1975; Duckles y Bevan, 1976; Toda y col., 1978; Cheng y Shibata, 1978); sin embargo, en arterias cerebrales humanas, Shibata y col. (1977) han encontrado una respuesta contractil para noradrenalina similar a la de la serotonina, el fármaco vasoconstrictor más potente a nivel de los vasos cerebrales. Se ha sugerido, que esta débil respuesta a noradrenalina sería debida a que las arterias cerebrales estarían dotadas de un sistema de incorporación neuronal (U_1) altamente eficiente (Roseblum, 1973). Esta hipótesis se apoya en el hecho de que Edvinsson y col. (1975), encontraron, en la arteria cerebral media de gato, una gran potenciación de la respuesta a esta amina, después de la gangliectomía cervical superior o tras el tratamiento con cocaína, procedimientos ambos que bloquean la incorporación de noradrenalina a la terminación nerviosa adrenérgica, incrementando la concentración del neurotransmisor a nivel del receptor. Nuestros resultados difieren de los de estos autores ya que no obtuvimos potenciación significativa de la respuesta a noradrenalina en preparaciones tratadas con cocaína, tanto en la arteria comunicante posterior como en la femoral, (Figs. 6 y 27). Tampoco se ha en-

contrado potenciación con cocaína en arterias cerebrales de perro (Toda y col., 1978) y conejo (Duckles y Bevan, 1976), pero si se ha obtenido un incremento en la respuesta, a dosis altas de noradrenalina en la arteria mesenterica de perro (Toda y col., 1978).

Otra explicación para la débil respuesta inducida por noradrenalina seria el hecho de que el músculo liso cerebral tuviera incrementada la incorporación de noradrenalina (sistema U_2 de recaptación), siendo rapidamente destruida por la catecol-o-metil transferasa (COMT). Sin embargo, Edvinsson y col. (1975) y Toda y col. (1978) no encontraron variación en la respuesta de las arterias cerebrales a noradrenalina, al inhibir este sistema de recaptación con normetanefrina o pirogalol, con lo cual esta hipótesis debe ser descartada.

Estos hallazgos indican que la pequeña respuesta de las arterias cerebrales a noradrenalina, no es debida a un incremento de los procesos de inactivación para esta amina. Es posible que el poco efecto que produce la noradrenalina en las arterias cerebrales sea un recurso fisiológico para defenderse el cerebro de las crisis hipertensivas que de vez en cuando acontecen en la vida de todo ser vivo.

Cuando se realizaron las curvas dosis-respuesta a noradrenalina en presencia de fentolamina $10^{-6}M$, antagonista de

los receptores alfa adrenérgicos, se obtuvo un desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta hacia la derecha (Figs. 5 y 26) que fue de 38 veces en la arteria comunicante posterior y de 20.7 veces en la arteria femoral. Estos resultados indican que esta amina está actuando, en ambos tipos de arterias, sobre receptores alfa para desarrollar su respuesta vasoconstrictora. Análogos resultados han sido obtenidos por otros investigadores en arterias cerebrales y periféricas de diferentes especies animales (Nielsen y Owman, 1971; Edvinsson y Owman, 1974; Urquilla y col., 1975; Duckles y Bevan, 1976). El valor encontrado para el pA_2 fue de 7.92 y 7.34 en la arteria comunicante posterior y femoral, respectivamente (Tabla 8), lo que indica que los receptores alfa adrenérgicos de ambos vasos son similares.

Por otra parte, esta pequeña respuesta, de los vasos cerebrales a noradrenalina, no puede ser atribuida a factores estructurales tales como la relativa proporción entre músculo y fibras elásticas, puesto que otros agonistas tales como histamina y 5-HT inducen respuestas vasoconstrictoras considerablemente altas. Se ha sugerido que esta baja respuesta a noradrenalina podría deberse a que los receptores alfa adrenérgicos de los vasos cerebrales son diferentes a los existentes en las arterias periféricas (Toda y col., 1978). Sin embargo, dado que el pA_2 y la ED_{50} (Tablas 3 y 8) encontrados en las arterias

cerebrales y femorales de gato son parecidos, se puede sugerir que la afinidad de la noradrenalina por estos receptores en ambos vasos es muy similar. Esto nos induce a pensar que puesto que el efecto máximo se obtiene con la ocupación total de receptores (Clark, 1933) la pobre respuesta a esta catecolamina se deberá probablemente a una escasa densidad de estos receptores en los vasos cerebrales con respecto a los periféricos, y esta disminución de la población de los mismos, lleva de la mano una disminución de los canales de calcio que operan a través de los receptores alfa y que introducen este ión, el cual es imprescindible para el proceso de excitación-contracción entre la actina y miosina del músculo liso vascular. De todas formas, esta hipótesis puede explicar este fenómeno, pero su confirmación está todavía por realizar. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que los microvasos cerebrales de cerdo y rata carecen prácticamente de receptores adrenérgicos alfa (Harik y col., 1980).

ISOPROTERENOL

La presencia de receptores beta en los vasos cerebrales parece ser dependiente de la especie animal utilizada. Así, mientras que en el gato (Edvinsson y Owman, 1974; Edvinsson y Lindvall, 1978) y oveja (Cheng y Shibata, 1978) han sido clara-

mente demostrados, en cabra (Urquilla y col., 1975), perro (Toda, 1974; O'Neill y Traystman, 1977) y conejo (Duckles y Bevan, 1976), no han podido ponerse de manifiesto.

El isoproterenol indujo respuestas vasoconstrictoras (sobre todo a dosis altas) tanto en arterias cerebrales como periféricas, que no se vieron modificadas por la presencia en el baño de propranolol, incluso a dosis altas (Figs. 7 y 28). Sin embargo, cuando las curvas dosis-respuesta a isoproterenol se hicieron en presencia de fentolamina, se obtuvo un desplazamiento paralelo de estas curvas hacia la derecha, en la arteria femoral, lo que indica un antagonismo competitivo entre el isoproterenol y el bloqueante alfa adrenérgico, en estos vasos, siendo el pA_2 para este antagonismo de 6.8. Sin embargo, en las arterias cerebrales disminuyó tanto la pendiente como la respuesta máxima (Fig. 8), es decir este antagonismo fue no competitivo.

El hecho de que el valor del pA_2 para el antagonismo noradrenalina-fentolamina en la arteria femoral sea de 7.34 (Tabla 8), es decir, parecido a este, indica que en las arterias femorales el isoproterenol interactúa con los receptores alfa adrenérgicos. Sin embargo, en las arterias cerebrales, al no bloquearse la respuesta de manera competitiva con fentolamina, no podemos hablar de que sea solo el antagonismo de los receptores

alfa el responsable de la alteración de la respuesta contráctil del isoproterenol, sino que algún otro mecanismo o receptores contribuyen a ello.

Nielsen y Owman (1971), sugirieron que el efecto vasoconstrictor del isoproterenol en la arteria cerebral media de gato, estaba mediado por los receptores beta. Por el contrario, Edvinsson y Owman (1974) comprobaron posteriormente que esta contracción no era debida a la activación de receptores beta pues su bloqueo con propranolol o INPEA (bloqueantes beta adrenérgicos) era no específico. Sin embargo, en la relajación que obtenían con isoproterenol después de dar un tono contráctil previo con 5-HT, sí estaban implicados los receptores beta. Por otra parte, estos investigadores encontraron, al igual que nosotros, que la contracción no se bloqueaba de manera competitiva con antagonistas alfa adrenérgicos, con lo que concluyeron que mientras el efecto vasodilatador del isoproterenol era debido a la activación de receptores beta, el vasoconstrictor era de naturaleza no específica. Shibata y col. (1977) también hallaron respuestas vasoconstrictoras en las arterias cerebrales humanas frente al isoproterenol, que se bloquearon con antagonistas de los receptores alfa, por lo que sugirieron que estaban mediadas por estos receptores.

ACETILCOLINA

Es conocido que la acetilcolina da lugar a respuestas vasoconstrictoras en preparaciones vasculares aisladas (Funaki y Bohr, 1964; Su y Bevan, 1965; Keatinge, 1966; Nakajima y Horn, 1967; Nielsen y Owman, 1971; Edvinsson y col., 1977a). Sin embargo, también se ha encontrado que la acetilcolina induce respuestas vasodilatadoras en el animal entero o en vasos aislados a los que se les ha contraído previamente por la estimulación eléctrica o con agentes vasoactivos (Burn y Rand, 1965; Rice y Long, 1966; Malik y Ling, 1969; Rand y Varna, 1970; Hume y col., 1972; Steinsland y col., 1973; Vanhoutte y col., 1977; Edvinsson y col., 1977a; Kuriyama y Suzuki, 1978; Toda, 1979). Se ha sugerido que esta vasodilatación podría deberse en parte a que la acetilcolina da lugar a una disminución en la liberación del neurotransmisor adrenérgico de las terminaciones nerviosas simpáticas presentes en la pared vascular (Vanhoutte y col., 1973; Vanhoutte, 1976; Shepherd y col., 1978).

La acetilcolina indujo respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes en las arterias cerebrales de gato que fueron bloqueadas competitivamente con atropina (Fig. 9). Los valores de pA_2 y K_b obtenidos (Tabla 8) fueron parecidos a los encontrados en otros tipos de tejidos para similares antagonismos

(Arunlakshana y Schild, 1959; Thron y Wand, 1968; Waller y col., 1976). Estos resultados nos demuestran que la respuesta obtenida es debida a la activación de receptores muscarínicos, confirmando por tanto la presencia de los mismos en los vasos cerebrales, previamente sugeridos por Nielsen y Owman (1971). Edvinsson y col. (1977a) también encontraron, en estos vasos cerebrales, una respuesta vasoconstrictora frente a acetilcolina que se bloqueaba competitivamente con atropina, y cuando a las arterias las sometieron a un tono contráctil previo con serotonina, obtuvieron una relajación que también fue bloqueada con atropina. Sin embargo, Toda (1979) no observó contracción frente a acetilcolina en la arteria basilar y cerebral media de perro, tan solo encontró vasodilatación después de un tono contráctil previo con prostaglandinas F2 α . Por otra parte, Shibata y col., (1977) y Cheng y Shibata (1978) no obtuvieron ni vasoconstricción ni vasodilatación en arterias cerebrales humanas y bovinas, respectivamente, por lo que sugirieron que la inervación colinérgica de los vasos cerebrales no juega un papel importante en la regulación del tono basal en este tipo de arterias.

En las arterias femorales, la acetilcolina dió lugar a una respuesta vasodilatadora que fue revertida a vasocons-

trictora, cuando las curvas dosis-respuesta se realizaron en presencia de atropina (Fig. 30), es decir, al contrario de lo que ocurría en las arterias cerebrales. Estos resultados son difíciles de interpretar, pero se puede sugerir que la acetilcolina en este tipo de arterias está actuando además de en los receptores muscarínicos, dando lugar a una vasodilatación, sobre otro tipo de receptores que inducirían la respuesta vasoconstrictora, de manera que éstas solo se manifestarían cuando estuviesen bloqueados los receptores muscarínicos. Probablemente esta vasoconstricción es debida a la interacción de la acetilcolina sobre receptores nicotínicos, que con bastante seguridad deben existir aquí y cuya activación liberaría noradrenalina, que sería la responsable de esta respuesta. Kuriyama y Suzuki (1978) y Toda (1979) también encontraron en arterias periféricas (mesentéricas, coronarias y renales) vasodilatación, cuando a estos vasos se les había dado un tono previo con cloruro potásico o prostaglandina F₂, α , que fue bloqueada por atropina.

SEROTONINA

La serotonina está implicada en múltiples procesos patológicos entre los que podemos mencionar la migraña (Buckell, 1964; Antony y col., 1967; Kangasniemi y col., 1972; Sicuteri

y col., 1973; Sjaastad, 1975) y en el vasoespasmo que ocurre en los vasos cerebrales tras la hemorragia subaracnoidea (Raynor y col., 1961; Raynor y Mcmurty, 1963; Kapp y col., 1968; Arutinov y col., 1970; Allen y col., 1974b). La 5-HT en la periferia se almacena en altas concentraciones en plaquetas, en mastocitos y en células enterocromafines (Garattini y Valzelli, 1965). Se ha sugerido que en la hemorragia subaracnoidea o en el ataque de migraña, la 5-HT se liberaría de sus lugares de almacenamiento y actuaría sobre el lecho vascular cerebral. El principal efecto de la 5-HT en vasos sanguíneos es vasoconstrictor en arterias y venas, mientras que en vasos de pequeño calibre como arteriolas y capilares el efecto más importante es vasodilatador. Se ha sugerido que la respuesta vasomotora es dependiente del tono existente previamente en los vasos (Haddy, 1960; Edvinsson y col., 1978a).

En cuanto a los efectos de la 5-HT en la circulación intra y extracraneal existen resultados contradictorios. Así, se ha observado tanto una reducción en el flujo sanguíneo cerebral y un gran incremento en el flujo sanguíneo extracerebral (Edvinsson y McKenzie, 1976) como una reducción en el flujo sanguíneo intracraneal y extracraneal (Edvinsson y McKenzie, 1976). Como en estos experimentos se han utilizado modelos in vivo muy

complicados, es difícil saber hasta que punto en estas respuestas están envueltos tan sólo los receptores serotoninérgicos presentes en la pared vascular. La caracterización farmacológica de los receptores es más fácil llevarla a cabo en segmentos vasculares aislados. Por esta razón, las diferencias sugeridas entre los techos vasculares intra y extracraneales deben ser estudiadas comparando las respuestas en segmentos vasculares representativos de cada zona.

Nuestros resultados muestran que la serotonina induce, en las arterias cerebrales, respuestas vasoconstrictoras superiores a las obtenidas con noradrenalina (Fig. 46; Tabla 2). Esta mayor sensibilidad de estos vasos a 5-HT ha sido observada también por otros investigadores en arterias cerebrales de gato (Nielsen y Owman, 1971), perro (Toda y Fujita, 1973; Allen y col., 1974b), cabra (Urquilla y col., 1975) y buey (Cheng y Shibata, 1978). Esta relación de respuestas de la 5-HT con respecto a la noradrenalina, es típica no solo de los vasos cerebrales, sino también de los vasos pulmonares y umbilicales (Erspamer, 1966; Somlyo y Somlyo, 1970; Altura y col., 1972; Toda y Fujita, 1973).

Los resultados obtenidos en la arteria comunicante posterior de gato, sugieren que en la respuesta contráctil inducida por 5-HT, el componente adrenérgico indirecto (liberador

de noradrenalina de las terminaciones nerviosas perivasculares) es de menor importancia que su efecto directo sobre los receptores serotoninérgicos presentes en los vasos cerebrales, puesto que los incrementos de tensión producidos por serotonina fueron sólo debilmente bloqueados por fentolamina, a una concentración que claramente antagonizó la respuesta vasoconstrictora de la noradrenalina (Figs. 5 y 10), mientras que el LSD, bloqueante de los receptores serotoninérgicos, sí disminuyó estos cambios de tensión (Fig. 11). Además, el pretratamiento de los animales con reserpina, tan solo redujo la respuesta contráctil en la primera dosis, lo que confirma aún más la poca importancia del efecto adrenérgico indirecto.

La virtual ausencia de un componente adrenérgico en el efecto contráctil de la 5-HT, puede ser debido a la poca capacidad de la serotonina para desplazar a la noradrenalina de las vesículas sinápticas o al predominio de la activación de los receptores serotoninérgicos sobre el componente indirecto, teniendo en cuenta la pobre respuesta que la noradrenalina, comparativamente con la serotonina, induce en los vasos cerebrales (Nielsen y Owman, 1971; Toda y Fujita, 1973; Urquilla y col., 1975; Cheng y Shibata, 1978).

Los resultados obtenidos en la arteria femoral de gato difieren de los encontrados en la arteria comunicante posterior del mismo animal. Así, la máxima respuesta vasoconstrictora inducida por serotonina es inferior a la de noradrenalina (Fig. 47; Tabla 2), al contrario de lo que ocurre en las arterias cerebrales. El hecho de que estas respuestas sean bloqueadas por LSD, indica que en la vasoconstricción inducida por 5-HT hay una participación de los receptores serotoninérgicos. Además, la presencia de fentolamina desplazó la curva dosis respuesta hacia la derecha (Fig. 31) y en arterias de animales reserpinizados los efectos vasoconstrictores inducidos por serotonina estuvieron disminuidos (Fig. 34). Estos resultados indican que en las arterias femorales la 5-HT, además de su efecto directo sobre los receptores serotoninérgicos, esta dotada de un componente adrenérgico indirecto, similar al de la tiramina. En otros tejidos tales como tiras aisladas de bazo y membrana nictitante de gato (Innes, 1962; Pluchino, 1972) así como en corazón de diferentes animales (Thompson, 1958; Trendelenburg, 1960; Fillion y col., 1971; Jester y Horst, 1972; Fozard y Mwaluko, 1976), también se ha demostrado un componente adrenérgico indirecto en los efectos producidos por la serotonina. Humphrey (1978) ha encontrado en vena safena de perro que la 5-HT a dosis bajas

actúa directamente sobre los receptores serotoninérgicos y a dosis altas tiene efecto indirecto desplazando a la noradrenalina de sus depósitos de almacenamiento. Sin embargo, en arterias extracraneales humanas (Jauerning y Moulds, 1978) y de perro (McGrath, 1977) aunque el efecto adrenérgico indirecto está presente, es de mayor importancia su acción directa sobre receptores serotoninérgicos.

Cuando se hicieron las curvas dosis-respuesta, en arterias femorales, en presencia de fentolamina + LSD, se obtuvo una gran disminución en la respuesta a 5-HT, lo que es lógico dado que este proceder bloquea tanto los receptores serotoninérgicos como los alfa adrenérgicos, responsables ambos de los efectos directos e indirectos de esta amina. La adición de estos dos bloqueantes al baño de órganos no se hizo en el caso de la arteria comunicante posterior dado el poco efecto de la fentolamina para bloquear la respuesta contráctil inducida por serotonina.

HISTAMINA

Se ha comprobado que la histamina no sólo contrae el músculo liso bronquial e intestinal, sino que también tiene capacidad para relajar capilares y venulas. Algunos efectos producidos por histamina tales como la broncoconstricción están

mediados por los receptores H_1 ya que se antagonizan con pirilamina, bloqueante de los H_1 . Sin embargo en la gastrosecreción, están implicados los receptores H_2 (Goodman y Gilman, 1975). En resumen, se ha demostrado la existencia en una serie de tejidos de dos tipos de receptores histaminérgicos: H_1 y H_2 .

El efecto de la histamina sobre el lecho vascular cerebral de varias especies animales, incluido el hombre, ha sido estudiado, utilizando diversas tecnologías, siendo los resultados obtenidos un tanto conflictivos. Así, la histamina ha producido: fuerte vasoconstricción (Politoff y Macri, 1966; Nielsen y Owman, 1971; Allen y col., 1974b; Edvinsson y Owman, 1975), vasodilatación (Anderson y Kubicek, 1971; Tindall y Greenfield, 1973; Edvinsson y Owman, 1975) o no alteración del flujo sanguíneo cerebral (Olesen y Skinhøj, 1971). Esta confusa situación unida a la existencia de células cebadas en cerebro con una localización perivascular (Rønnber y col., 1973), nos ha estimulado a efectuar un análisis farmacológico comparativo de los receptores histaminérgicos H_1 en vasos cerebrales y periféricos analizando las posibles diferencias, si las hubiere.

La histamina indujo respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes en la arteria comunicante posterior de gato

(Fig. 51). También han obtenido este tipo de respuestas otros investigadores en arterias cerebrales de gato (Nielsen y Owman, 1971; Edvinsson y Owman, 1975; Duckles y Bevan, 1979), cabra (Urquilla y col., 1975), hombre (Shibata, 1977) y buey (Cheng y Shibata, 1978).

El efecto contráctil de la histamina fue antagonizado por difenhidramina (Fig. 13) lo que sugiere que los receptores responsables de esta vasoconstricción en las arterias cerebrales, son del tipo H_1 . El pA_2 obtenido para este antagonismo fue de 7.69 (Tabla 8); este valor es semejante a los encontrados con el mismo antagonista por Urquilla y col. (1975) en arterias cerebrales de cabra, y por Arunlakashana y Schild (1959) en pulmón perfundido de cobayo, que fueron de 7.41 y 7.8, respectivamente. Estos valores de pA_2 tan semejantes indican que en los tres casos el receptor para histamina es del mismo tipo.

También Cheng y Shibata (1978) demostraron en arterias cerebrales de buey que la respuesta a histamina se bloqueaba competitivamente con difenhidramina. Sin embargo, Edvinsson y Owman (1975) observaron que la respuesta contráctil inducida por esta amina en arterias cerebrales de gato, no se bloqueaba de manera competitiva con clorfeniramina, un bloqueante de los

receptores H_1 , por lo que sugirieron que el efecto vasoconstrictor de la histamina en arterias cerebrales era de naturaleza no específica. Estos mismos autores obtuvieron una respuesta vasodilatadora con histamina, cuando a las arterias cerebrales se les sometió a un tono contráctil previo con 5-HT, que se antagonizó con burimamida, un bloqueante de los receptores H_2 , por lo que indicaron que la vasodilatación encontrada se debía a una interacción de la histamina con estos receptores H_2 .

En la arteria femoral, la histamina también dió lugar a respuestas vasoconstrictoras dosis-dependientes que también se bloquearon, de forma competitiva por difenhidramina (Fig. 35), siendo el valor de pA_2 obtenido para este antagonismo de 6.73. Estos resultados sugieren que en estas arterias los receptores implicados en la respuesta contráctil a histamina son del tipo H_1 , y coinciden con los encontrados por Edvinsson y Owman (1975) en arterias extracraneales de gato. Estos investigadores observaron que la respuesta contráctil a histamina se bloqueaba con mepiramina, otro bloqueante de los receptores H_1 . También observaron una vasodilatación con histamina, cuando a las arterias se les daba previamente un tono con serotonina, siendo dicha relajación bloqueada con antagonistas de los receptores

H₂; por lo que concluyeron que en los vasos periféricos, la vasoconstricción inducida por histamina está mediada por los receptores H₁ mientras que en la vasodilatación están implicados los H₂.

DOPAMINA

La dopamina es una amina que tiene efectos complejos a nivel vascular pudiendo contraer o relajar los vasos sanguíneos (Cohen y Berkowitz, 1975). Con el fin de aclarar los mecanismos implicados en los efectos producidos por la dopamina, diversos investigadores han estudiado los receptores específicos para dopamina a nivel de ganglio (Kebabian y Greengard, 1971), cerebro (Kebabian y col., 1972) y en arterias pertenecientes a diversos lechos vasculares (McNay y Goldberg, 1966; Yeh y col., 1969; Higgins y col., 1973; Schuelke y col., 1971; Edvinsson y col., 1978a).

Nuestros resultados muestran que dopamina indujo respuestas vasoconstrictoras tanto en arterias cerebrales como periféricas (Figs. 46 y 47); pero mientras que en arterias cerebrales la máxima respuesta obtenida con dopamina fue mayor que la observada para noradrenalina, en arterias periféricas

ocurrió lo contrario (Tabla 2). Sin embargo, la ED_{50} fue mayor que la de noradrenalina en ambos tipos de vasos (Tabla 3). Estos resultados coinciden con los de Toda (1976) en arterias cerebrales y periféricas de perro.

Cuando se realizaron curvas dosis-respuesta a esta amina en presencia de fentolamina, observamos, que en las arterias cerebrales, este bloqueante de los receptores alfa adrenérgicos, no alteró significativamente la respuesta a dopamina, mientras que en las arterias femorales obtuvimos un desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta hacia la derecha (Figs. 14 y 36). En presencia de haloperídol, antagonista de los receptores dopaminérgicos, se observó una disminución significativa en la respuesta contráctil a todas las dosis, en las arterias cerebrales, mientras que en las arterias femorales, no hubo alteración en la curva dosis-respuesta a dopamina (Figs. 15 y 37). Estos resultados demuestran que en las arterias cerebrales de gato el efecto contráctil de la dopamina se debe principalmente a la activación de receptores dopaminérgicos, mientras que en las arterias femorales es la activación de receptores alfa el principal componente en la respuesta vasoconstrictora de dopamina.

Estos resultados difieren de los obtenidos in vivo por Von Essen (1974) el cual observó que el principal efecto de la dopamina aplicada intravenosamente, era una vasoconstricción que se revertía a relajación después del tratamiento con bloqueantes de los receptores alfa.

Toda (1976) encontró respuestas vasoconstrictoras con dopamina en arterias cerebrales de perro. También se han observado respuestas vasodilatadoras, tanto en arterias cerebrales como periféricas, cuando a estos vasos se les aplicaba fenoxibenzamina, bloqueante alfa adrenérgico irreversible, y se les daba un tono previo con prostaglandinas $F_2 \alpha$ (Goldberg y Toda, 1975).

Edvinsson y col. (1978a) observaron respuestas vasoconstrictoras con la dopamina, en arteria cerebral media de gato, que fueron bloqueadas de manera no competitiva por piperoxano, fentolamina y fenoxibenzamina (bloqueantes de los receptores alfa adrenérgicos). Con estos hallazgos sugirieron que en la respuesta vasoconstrictora inducida por dopamina deberían participar otros receptores, aparte de los alfa adrenérgicos. Además, demostraron que la ciproheptadina, bloqueante de los receptores serotoninérgicos, antagonizaba la contracción obtenida

con dopamina de forma similar a como antagonizaba la respuesta a serotonina, por lo que concluyeron que los receptores serotoninérgicos deberían estar implicados en la respuesta obtenida con dopamina. A estas mismas conclusiones llegaron Gilbert y Goldberg (1975) en sus experimentos en arterias femorales de perro. Sin embargo, Edvinsson y col. (1978a) sugirieron que la respuesta vasodilatadora que encontraron en arterias cerebrales (después de bloquear los receptores alfa adrenérgicos con fenoxibenzamina y dar un tono contráctil previo con un agente vasoactivo) podría ser debida a la activación de receptores dopaminérgicos, ya que se bloqueaba, de manera competitiva, con bulbo-capnina, bloqueante específico de los receptores dopaminérgicos.

TIRAMINA

La tiramina es una conocida amina simpaticomimética de acción indirecta que se capta por la terminación nerviosa simpática y desplaza a la noradrenalina de las terminaciones nerviosas (Burn y Rand, 1958), por consiguiente para que esta amina pueda actuar se necesita que las terminaciones nerviosas estén intactas. Se ha comprobado que la tiramina contrae las arterias cerebrales y periféricas de forma dosis-dependiente

(Urquilla y col., 1974; Edvinsson y col., 1975; Lluch y col., 1975; Marín y Salaices, 1978; Toda y col., 1978). Esta respuesta se reduce con la simpatectomía, tratamiento con reserpina o con la administración de fentolamina (Urquilla y col., 1974; Edvinsson y col., 1975; Lluch y col., 1975). También se ha demostrado que la tiramina libera H^3 -noradrenalina de arterias cerebrales de gato y cabra preincubadas con esta amina tritiada (Salaices y col., 1980; Marín y Sánchez, 1980 a y b). Esta liberación se anula prácticamente con la gangliectomía cervical superior o la reserpinización (Marín, resultados no publicados).

La tiramina produjo respuestas contráctiles dosis-dependientes, tanto en la arteria comunicante posterior como en la femoral de gato. La respuesta máxima alcanzada por esta amina fue superior a la obtenida con noradrenalina en arterias cerebrales, mientras que en las arterias periféricas la respuesta a noradrenalina fue mayor (Figs. 46 y 47, Tabla 2). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Toda y col. (1978) en arterias cerebrales y mesentéricas de perro.

Nuestros resultados muestran que la tiramina tiene en la arteria comunicante posterior de gato, un componente di-

recto a nivel del músculo liso vascular porque: 1) La respuesta máxima a tiramina es superior a la producida por noradrenalina (Fig. 46; Tabla 2). Si la acción de la tiramina fuera única o predominantemente indirecta las respuestas deberían ser aproximadamente iguales. 2) La fentolanina no dió lugar a bloqueo competitivo de la respuesta a tiramina, como sería de esperar si la tiramina actuara únicamente liberando noradrenalina (Fig. 15). 3) El pretratamiento previo de los animales con reserpina disminuyó la respuesta vasoconstrictora de la tiramina sin alterar la respuesta máxima (Fig. 17). 4) La gangliectomía cervical superior disminuyó la vasoconstricción producida por tiramina, pero todavía quedó una respuesta importante (Fig. 18). Estos hallazgos son similares a los obtenidos por Urquilla y col. (1974) en arterias cerebrales de cabra.

Sin embargo, en arterias femorales nuestros resultados muestran que el pretratamiento con reserpina disminuyó marcadamente las respuestas a tiramina a todas las dosis utilizadas y que fentolanina antagoniza las respuestas a tiramina y noradrenalina. Estos resultados, unidos al hecho de que la noradrenalina produce respuestas contráctiles superiores a las de tiramina, indican que en estas arterias la tiramina actúa fun-

damentalmente liberando noradrenalina de las terminaciones nerviosas perivasculares. Resultados similares encontraron Toda y col (1978) en arteria mesentérica de perro. Sin embargo, Krishnamurty y Grollman (1972) en arteria aorta de rata, observaron que los efectos de esta amina eran fundamentalmente debidos a la activación de los receptores alfa adrenérgicos.

En resumen, en la vasoconstricción inducida por tiramina, en las arterias cerebrales, existen dos componentes: uno directo sobre el músculo liso vascular y otro adrenérgico indirecto, es decir liberador de noradrenalina de las terminaciones nerviosas perivasculares. Sin embargo, en la arteria femoral esta amina posee esencialmente el componente adrenérgico indirecto.

ESTIMULACION ELECTRICA

Para poner de manifiesto la existencia de fibras nerviosas simpáticas en los vasos cerebrales y el papel funcional de las mismas se han utilizado varios procedimientos: a) estimulación eléctrica de la cadena simpática cervical de diferentes especies animales incluido el hombre (Krog, 1964; James y col., 1969; D'Alecy, 1973; Heistad y col., 1977), b) extirpación del ganglio simpático cervical superior (Iwayama, 1970;

Alborch y col., 1977) y c) administración de fármacos activos sobre neuronas adrenérgicas (Lluch y col., 1973; Sercombe y col., 1975; Gómez y col., 1976; Alborch y col., 1977). Sin embargo, las investigaciones llevadas a cabo mediante estimulación eléctrica de campo de segmentos de arterias cerebrales aisladas han dado resultados dispares (Kunschinsky y Wahl, 1978). Así, mientras Toda y Fujita (1973) y Cheng y Shibata (1978) no encontraron respuesta contráctil frente al estímulo eléctrico en tiras helicoidales de arterias cerebrales de perro y buey, otros investigadores por el contrario observaron un aumento de tensión frente al estímulo eléctrico en segmentos cilíndricos de arterias cerebrales de diversas especies animales (Bevan y Bevan, 1973; Lee y col., 1976; Conde y col., 1978; Muramatsu y col., 1978; Duckles, 1979). Estos últimos resultados sugieren un posible papel funcional de las terminaciones nerviosas perivasculares presentes en estos vasos. Aunque no podemos excluir diferencias de respuesta debidas al uso de especies animales diferentes, es posible que la utilización de tiras helicoidales, dañe el tejido más que el uso de segmentos cilíndricos arteriales, y en gran medida podría explicar estos discordantes resultados.

Los resultados obtenidos en la arteria comunicante posterior de gato muestran que la estimulación eléctrica produce una contracción dependiente de la frecuencia utilizada. Estos resultados están en desacuerdo con los observados por Lee y col. (1978) en arterias cerebrales de gato. En efecto estos investigadores no encontraron respuesta vasoconstrictora frente al estímulo eléctrico, pero sí hallaron una respuesta vasodilatadora, en arterias sometidas a un tono contráctil previo con 5-HT.

La respuesta vasoconstrictora inducida por la estimulación eléctrica es debida al menos en parte, a la liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas simpáticas, puesto que esta respuesta disminuyó con tetrodotoxina, bretilium, fentolamina, reserpina y gangliectomía cervical superior. Estos resultados son similares a los encontrados en vasos cerebrales aislados de cabra (Conde y col., 1978) y confirman observaciones semejantes realizadas en cabras despiertas, que muestran una disminución del flujo sanguíneo cerebral producido por la estimulación eléctrica de la cadena simpática cervical (Lluch y col., 1975).

La disminución significativa de la respuesta contráctil obtenida con tetrodotoxina (Fig. 19) sugiere que la contracción es de naturaleza neurógena, puesto que este fármaco actúa impidiendo la conducción del impulso nervioso (Kao, 1966). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros investigadores en arterias cerebrales aisladas de conejo, perro, cabra y oveja (Bevan y Bevan, 1973; Lee y col., 1976; Conde y col., 1978; Muramatsu y col., 1978; Duckles, 1979; Duckles y Bevan, 1979).

El bretilium, bloqueante neuronal adrenérgico, redujo también la respuesta contráctil frente al estímulo eléctrico (Fig. 20). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Lee y col. (1976), Conde y col. (1978), Muramatsu y col. (1978) y Duckles (1979) y refuerzan la hipótesis de la naturaleza neurógena de la contracción.

Con el fin de investigar si la contracción era debida a la liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas perivasculares se estimularon eléctricamente segmentos vasculares procedentes de: 1) animales tratados previamente con reserpina, y 2) animales a los que 15 días antes se les había extirpado ambos ganglios simpáticos cervicales superiores. En ambos casos hubo una disminución significativa de la respuesta

contráctil con respecto a los controles, lo cual sugiere la participación de las fibras simpáticas procedentes de los ganglios cervicales superiores en la respuesta contráctil de las arterias cerebrales frente al estímulo eléctrico. Estos experimentos apoyan las observaciones morfológicas que demuestran la casi total desaparición de la fluorescencia típica de noradrenalina, en cortes histológicos de vasos cerebrales de animales tratados con reserpina y gangliectomizados (Nielsen y Owman, 1967; Hernández-Pérez y Stone, 1974), así como justifica el aumento del flujo sanguíneo cerebral obtenido en la cabra despierta después del tratamiento con reserpina (Lluch y col., 1975) y tras la extirpación de los ganglios simpáticos cervicales superiores (Alborch y col., 1977).

En presencia de cocaína, no se alteró la respuesta contráctil frente al estímulo eléctrico (Fig. 22). Estos resultados coinciden con los encontrados en la arteria basilar y la de la oreja de conejo (de la Lande y col., 1969; Lee y col., 1976) y en la arteria cerebral media de cabra (Conde y col., 1978), en los que tampoco hubo potenciación con cocaína frente al estímulo eléctrico. Estos datos se podrían explicar, basándose en las investigaciones hechas por Berkowitz y col. (1971)

el cual encontró que en vasos sanguíneos de conejo, gato y cobayo la recaptación neuronal de noradrenalina es poco importante.

La fentolamina, redujo la respuesta contráctil frente al estímulo eléctrico (Fig. 24), pero esta reducción solo fue significativa en las dos últimas frecuencias. Conde y col. (1978) en arterias cerebrales de cabra y Duckles (1979) en arterias cerebrales de oveja, encontraron que la fentolamina abolía casi completamente la respuesta obtenida tras la estimulación eléctrica. Sin embargo, Lee y col. (1976) en arterias cerebrales de conejo, Muramatsu y col. (1978) y Duckles (1979) en arterias cerebrales de perro, encontraron por el contrario que la fentolamina aumentaba la respuesta contráctil inducida por la estimulación eléctrica a las mismas dosis que bloqueaba la respuesta a noradrenalina. Esta aparente contradicción, indica probablemente, una diferente sensibilidad de los receptores alfa presinápticos a los agentes bloqueante. Además, en estas mismas arterias, se ha observado que la fentolamina incrementa la liberación de noradrenalina tritiada evocada por estimulación eléctrica (Muramatsu y col., 1978; Duckles y Rapoport, 1979) sugiriendo la presencia de receptores presinápticos alfa-adrenérgicos en estos tejidos. Es posible que la fentolamina a la

concentración utilizada sea más efectiva en los receptores presinápticos alfa-adrenérgicos que en los receptores postsinápticos de los vasos cerebrales de conejo y perro, mientras que en las arterias cerebrales de cabra y oveja, sean los receptores postsinápticos, los más sensibles a fentolamina.

Por otra parte, la estimulación eléctrica de las arterias femorales de gato produjo una vasoconstricción dependiente de la frecuencia utilizada. Esta respuesta disminuyó significativamente cuando la curva frecuencia respuesta se realizó en presencia de tetrodotoxina, bretilium, fentolamina, o en arterias procedentes de animales reserpinizados (Figs. 40 a 44). Esto nos induce a pensar que la vasoconstricción obtenida tras la estimulación eléctrica, es debida fundamentalmente a la liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas existentes en la pared del vaso. La reducción por fentolamina de la respuesta a casi todas las frecuencias utilizadas sugiere la posible existencia de una diferencia en la afinidad de este antagonista por los receptores alfa presinápticos en arterias cerebrales y femorales de gato. Lee y col. (1976) encontró también una respuesta vasoconstrictora en la arteria safena de conejo, que se bloqueó casi completamente con fenoxibenzamina,

mientras que en las arterias cerebrales del mismo animal, como hemos dicho anteriormente, observó una potenciación de la respuesta vasoconstrictora evocada por el estímulo eléctrico, con este bloqueante alfa adrenérgico. Toda y Fujita (1973) también encontraron una respuesta vasoconstrictora frente al estímulo eléctrico, en la arteria mesentérica de perro que se bloqueaba con tetrodotoxina.

POTENCIAS RELATIVAS

El más potente de los agentes vasoactivos estudiados en la arteria comunicante posterior, con respecto a la DE_{50} , fue la serotonina, como se puede observar en la tabla 3. Esta gran potencia de la 5-HT en estas arterias cerebrales, es similar a la encontrada en vasos cerebrales de perro (Bohr y col., 1961; Toda y Fujita, 1973), gato (Nielsen y Owman, 1971), cabra (Urquilla y col., 1975), hombre (Shibata y col., 1977) y buey (Cheng y Shibata, 1978). A continuación le siguen: Noradrenalina > Acetilcolina > Histamina > Dopamina > Tiramina > Isoproterenol > Cloruro potásico, coincidiendo esta ordenación con la obtenida por Urquilla y col. (1975) en arterias cerebrales de cabra, aunque estos autores no encontraron ninguna respuesta a isoproterenol. En las arterias femorales el orden de potencias

fue: 5-hidroxitriptamina > Noradrenalina > Isoproterenol > Histamina > Dopamina > Tiramina > Cloruro potásico (tabla 3) que como podemos observar, también fue la 5-HT el fármaco más potente en estas arterias.

En cuanto a la actividad intrínseca o máxima respuesta alcanzada, en las arterias cerebrales, se observó que la acetilcolina junto con la tiramina e histamina, son los fármacos de mayor actividad intrínseca (Fig. 46, Tabla 2) mientras que la noradrenalina y el cloruro potásico, presentaron la menor respuesta máxima, los demás fármacos (serotonina, isoproterenol y dopamina) tuvieron valores intermedios. Sin embargo en las arterias femorales ocurre lo contrario, siendo la noradrenalina el fármaco con el cual se obtiene mayor respuesta, mientras que tiramina e histamina, son los fármacos de menor actividad intrínseca. Los resultados obtenidos con tiramina y noradrenalina en arterias cerebrales periféricas, son similares a los de Toda y col. (1978) en arterias cerebrales y mesentéricas de perro.

CONTENIDO DE NORADRENALINA EN ARTERIAS CEREBRALES Y FEMORAL DE GATO

Se sabe que los vasos cerebrales de gato (Edvinsson y sol., 1972b), conejo (Svendgaard y col., 1977), rata (Spector

y col., 1977), cabra (Conde y col., 1978) y perro (Toda y col., 1978), contienen una elevada concentración de noradrenalina.

Nuestros resultados están de acuerdo con los obtenidos por otros investigadores, puesto que la valoración del contenido de noradrenalina de las arterias cerebrales de gato muestran también un elevado contenido en este neurotransmisor adrenérgico (Tabla 1). Todos los hallazgos prueban que estos lechos vasculares gozan de una rica inervación simpática que es superior a la que posee la arteria femoral, dado su bajo contenido en noradrenalina (Tabla 1).

Tanto el tratamiento con reserpina en ambos tipos de arterias como la gangliectomía cervical superior en las arterias cerebrales, disminuyeron drásticamente el nivel de este neurotransmisor hasta valores prácticamente indetectables (Tabla 1), lo que nos sirve de comprobación de la eficacia de la dosis utilizada para reserpínizar a estos animales y de la gangliectomía.

141

CONCLUSIONES

1. Las arterias comunicante posterior y femoral de gato son capaces de responder a los siguientes fármacos: noradrenalina, isoproterenol, acetilcolina, serotonina, histamina, dopamina, tiramina y cloruro potásico, así como a la estimulación eléctrica. En todos los casos se ha obtenido una respuesta vasoconstrictora, excepto con acetilcolina en la arteria femoral, en donde se obtuvo una vasodilatación.
2. La máxima respuesta contráctil inducida por estos fármacos y en orden decreciente fue en la arteria comunicante posterior: Tiramina > acetilcolina > histamina > 5-hidroxitriptamina > dopamina > isoproterenol > noradrenalina > cloruro potásico, mientras que en la arteria femoral este orden fue: Noradrenalina > 5-hidroxitriptamina > dopamina > cloruro potásico > isoproterenol > histamina > tiramina.
3. La potencia de estos fármacos con respecto a la DE_{50} y también en orden decreciente fue en la arteria comunicante posterior: 5-hidroxitriptamina > noradrenalina > acetilcolina > histamina > dopamina > tiramina > isoproterenol > cloruro potásico, y en la arteria femoral fue: 5-hidroxitriptamina >

> noradrenalina > isoproterenol > histamina > dopamina > tiramina > cloruro potásico.

4. La noradrenalina produjo, en ambos tipos de arterias respuestas vasoconstrictoras que están mediadas por receptores alfa adrenérgicos, puesto que se bloquearon con fentolamina.
5. El isoproterenol indujo respuestas vasoconstrictoras mediadas por los receptores alfa adrenérgicos ya que, en ambos tipos de arterias, fueron bloqueadas por fentolamina y no por propranolol (bloqueante beta adrenérgico).
6. La acetilcolina indujo respuestas vasoconstrictoras en las arterias cerebrales de gato que fueron bloqueadas competitivamente con atropina, lo cual demuestra la existencia de receptores muscarínicos en estos lechos vasculares. Sin embargo, la respuesta de las arterias femorales frente a acetilcolina fue una vasodilatación que se revertió a vasoconstricción, cuando las curvas dosis-respuesta se hicieron en presencia de atropina.
7. En los incrementos de tensión inducidos por serotonina, en la arteria comunicante posterior de gato existe un débil componente adrenérgico indirecto siendo la vasoconstricción producida por esta amina esencialmente de tipo directo sobre los receptores serotoninérgicos presentes en el vaso. Sin embargo, en las respuestas vasoconstrictoras inducidas por la serotonina en la

arteria femoral existen al menos dos mecanismos: a) directo sobre los receptores serotoninérgicos presentes en estos vasos y b) indirecto, de tipo tiraminérgico, mediante la liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas simpáticas perivasculares.

8. La respuesta vasoconstrictora que induce la histamina, en ambos tipos de arterias está mediada por los receptores H_1 , ya que se bloqueó de forma competitiva con difenhidramina antagonista de dichos receptores.
9. El efecto contráctil de la dopamina en las arterias cerebrales se debe principalmente a la activación de receptores dopaminérgicos, mientras que en las arterias femorales es la activación de los receptores alfa el principal componente en la respuesta vasoconstrictora de la dopamina.
10. En los efectos vasoconstrictores inducidos por la tiramina, en la arteria comunicante posterior, existen dos componentes, una directa sobre el músculo liso vascular y otro indirecto liberador de noradrenalina de las terminaciones nerviosas adrenérgicas presentes en el vaso. Sin embargo, en las arterias femorales los efectos vasoconstrictores de la tiramina son fundamentalmente de tipo adrenérgico indirecto.

11. La estimulación eléctrica produce una vasoconstricción depen-
diente de la frecuencia utilizada en ambos tipos de arterias.
Esta respuesta vasoconstrictora es debida, al menos en parte,
a la liberación de noradrenalina de las terminaciones nervio-
sas simpáticas, puesto que esta respuesta se disminuye con
tetrodotoxina, bretilium, fentolamina, reserpina y gangliec-
tomía cervical superior.
12. Tanto el tratamiento con reserpina, en ambos tipos de arterias,
como la gangliectomía cervical superior, en las arterias ce-
rebrales, disminuyeron drásticamente el nivel de este neuro-
transmisor hasta valores prácticamente indetectables, lo que
nos indica la eficacia de la dosis utilizada para reserpini-
zar a estos animales y de la gangliectomía.

165 bis

B I B L I O G R A F I A

- ALBORCH, E.; GOMEZ, B.; DIEGUEZ, G.; MARIN, J. y LLUCH, S.:
Cerebral blood flow and vascular reactivity after removal of the superior cervical sympathetic ganglion in the goat. *Circ. Res.* 41: 278-282, 1977.
- ALLEN, G.S.; GOLD, L.H.A.; CHOU, S.N. y FRENCH, L.A.: Cerebral arterial spasm. Part. 3: In vivo intracisternal production of spasm by serotonin and blood and its reversal by phenoxybenzamine. *J. Neurosurg.* 40: 451-458, 1974a.
- ALLEN, G.S.; HENDERSON, L.M.; CHOU, S.N. y FRENCH, L.A.: Cerebral arterial spasm. Part I: In vitro contractile activity of vasoactive agents on canine basilar and middle cerebral arteries. *J. Neurosurg.* 40: 433-441, 1974b.
- ALLEN, G.S.; GROSS, C.J.; FRENCH, L.A. y CHOU, S.N.: Cerebral arterial spasm. Part 5: In vitro contractile activity of vasoactive agentes including human CSF on human basilar and anterior cerebral arteries. *J. Neurosurg.*, 44: 594-600, 1976.

- ALTURA, B.M.; MALAVIYA, D.; REICH, C.F. y ORKIN, L.R.: Effects of vasoactive agents on isolated human umbilical arteries and veins. *Am. J. Physiol.* 222: 345-355, 1972.
- AMIN, A.H.; GRAWFORD, T.B. y GADDUM, J.H.: The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. *J. Physiol. Lond.*, 126: 596-618, 1954.
- ANDERSON, W.A. y KUBICEK, W.G.: Effects of betahistine HCl, nicotinic acid, and histamine on basilar blood flow in anesthetized dogs. *Stroke*, 2: 409-415, 1971.
- ANTHONY, M.; HINTERBERGER, H. y LANCE, J.W.: Plasma serotonin in migraine and stress. *Arch. Neurol.* 16: 544-552, 1967.
- ANTON, A.H. y SAYRE, D.F.: A study of the factors affecting the aluminum oxidetrihydroxy indole procedure for the analysis of catecholamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 138: 360-374, 1962.
- ARUNLAKSHANA, O. y SCHILD, H.O.: Some quantitative used of drugs antagonists. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* 14: 48-58, 1959.
- ARIENS, E.J.; VAN ROSSAM, J.M. y SIMONIS, A.M.: A theoretical basis of molecular pharmacology. *Arzneimittelforsch* 6: 282, 1956.

- ARUTINOV, A.I.; BARON, M.A. y MAJOROVA, N.A.: Experimental and clinical study of the development of spasm of the cerebral arteries related to subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.* 32: 617-625, 1970.
- AUBINEAU, P. y SERCOMBE, R.: Evidence for a double cholinergic mechanism capable of reducing the tone of cerebral arteries. In: *Cerebral Function, Metabolism and Circulation*, edited by D.H. Ingvar and N.A. Lassen. Copenhagen: Munksgaard, p. 296-297, 1977.
- BERKOWITZ, B.A.; LEE, C.H. y SPECTOR, S.: Disposition of serotonin in the rat blood vessels and heart. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1: 397-400, 1975.
- BERKOWITZ, B.A.; TARVER, J.H. y SPECTOR, S.: Norepinephrine in blood vessels, concentration, binding, uptake and depletion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 177: 119-126, 1971.
- BERTLER, A.; FALCK, B. y ROSENGREN, E.: The direct demonstration of a barrier mechanism in the brain capillaries. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 20: 317-321, 1962.
- BERTLER, A.; FALCK, B.; ÖWMAN, C. y ROSENGREN, E.: The localization of monoaminergic blood-brain barrier mechanism. *Pharmacol. Rev.* 18: 369-385, 1966.

- BETZ, E.: Cerebral blood flow: its measurement and regulation.
Physiol. Rev. 52: 595-630, 1972.
- BEVAN, J.A. y BEVAN, R.D.: Localized neurogenic vasoconstriction
of the basilar artery. Stroke 4: 760-763, 1973.
- BEVAN, J.A.; HOSMER, D.W.; LJUND, B.; PEGRAM, B.L. y SU, C.:
Innervation pattern and neurogenic response of rabbit veins.
Blood Vessels 11: 172-182, 1974.
- BEVAN, J.A. y SU, C.: The sympathetic mechanism in the isolated
pulmonary artery of the rabbit. Br. J. Pharmac. Chemother.
22: 176-182, 1964.
- BJÖRKLUND, A.; FALCK, B. y ÖHMAN, C.: Fluorescence microscopic and
microspectrofluorometric techniques for the cellular localization and
characterization of biogenic amines. En: Methods of Investigative and
Diagnostic Endocrinology. Ed. por S.A. Berson, Vol. 1, The thyroid and
Biogenic Amines. Ed. by J.E. Rall and I.J. Kopin, pp. 318-368, North
Holland Publishing Co., 1972.
- BOHR, D.F.; GOULET, P.L. y TAQUINI, A.C. Jr.: Direct tension re-
cording from smooth muscle of resistance vessels from various organs.
Angiology 12: 478-485, 1961.

- BORODULYA, A.V. y PLETCHKOVA, E.K.: Distribution of cholinergic and adrenergic nerves in the internal carotid artery. Acta Anat. 86: 410-425, 1973.
- BRODIE, B.B. y SHORE, P.A.: A concept for a role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. Ann. N.Y. Acad. Sci. 66: 631-642, 1957.
- BUCKELL, M.: Demonstration of substances capable of contracting smooth muscle in haematoma fluid from certain cases of ruptured cerebral aneurysm. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 27: 198-199, 1964.
- BURGEN, A.S.U.: Receptor mechanisms. Ann. Rev. Pharmacol. 10: 7-18, 1970.
- BURN, J.H. y RAND, M.J.: The action of sympathomimetic amines in animals treated with reserpine. J. Physiol. 144: 314-336, 1958.
- BURN, J.H. y RAND, M.J.: Acetylcholine in adrenergic transmission. A. Rev. Pharmac. 5: 163-182, 1965.
- CALNE, D.; CHASE, T.N. y BARBEAU, A.: Dopaminergic mechanisms. Adv. Neurol., New York, Raven. Vol. 9, p. 427, 1975.

- CHAN-PALAY, V.: Serotonin axons in the supra- and subependymal plexuses and in the leptomeninges: Their roles in local alterations of cerebrospinal fluid and vasomotor activity. Brain Res. 102: 103-130, 1976.
- CHAN-PALAY, V.: Innervation of cerebral blood vessels by norepinephrine, indoleamine, substance P and neurotensin fibers and the leptomeningeal indoleamine axons: Their roles in vasomotor activity and local alterations of brain blood composition, en Neurogenic Control of the Brain Circulation Ed. C. Owman y L. Edvinsson (Pergamon Press, Oxford), pág. 39-53, 1977.
- CHENG, J.B. y SHIBATA, S.: Reactivity of isolated bovine cerebral arteries to biogenic amines. Gen. Pharmacol., 9: 189-193, 1978.
- CHOROBSKI, J. y PENFIELD, W.: Cerebral vasodilator nerves and their pathway from the medulla oblongata. Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago), 28: 1257-1289, 1932.
- COBB, S. y FINESINGER, J.E.: Cerebral circulation. XIX. The vagal pathway of the vasodilator impulses. Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago), 28: 1243-1256, 1932.

- CHUIB, I.W.; POTTER, W.P. de y SHAEPDRYUER, A.F.: Evidence for two types of noradrenaline storage particles in dog spleen. *Nature*, 228: 1203-1204, 1970.
- CLARK, A.J.: The mode of action of drug on Cells. Edward Arnold, Co. London, 1933.
- COHEN, M. y BERKOWITZ, B.A.: Differences between the effects of dopamine and apomorphine on rat aortic strips. *Europ. J. Pharmacol.* 34: 49-58, 1975.
- CONDE, M.V.; MARIN, J.; SALAICES, M.; MARCO, E.; GOMEZ, B. y LLUCH, S.: Adrenergic vasoconstriction of the goat middle cerebral artery in response to field electrical stimulation. *Am. J. Physiol.* 235: 131-135, 1978.
- COSTA, E. y GESSA, G.L.: Nonestrial dopaminergic nervous. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, Vol. 16: New York, Raven, p. 708, 1977.
- COSTA, J.L.; ITO, U.; SPATZ, M.; KLATZO, I. y DEMIRJIAN, C.: 5-Hydroxytryptamine accumulation in cerebrovascular injury. *Nature, Lond.* 248: 135-136, 1974.
- CURRO, F.A.; GREENBERG, S.; VERVEUREN, T.J. y VANHOUTTE, P.M.: Interaction between alpha adrenergic and serotonergic activation of canine saphenous veins. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 207: 936-949, 1978.

- CSILLIK, B.; JANSKO, G.; TOTH, L.; KOZMA, M.; KALMAN, G. y KARCSU, S.: Adrenergic innervation of hypothalamic blood vessels. A contribution to the problem of central thermodetectors. *Acta Anat.* 80: 142-151, 1971.
- DAHL, E.: The innervation of the cerebral arteries, *J. Anat.* 115: 53-63, 1973.
- D'ALECY, L.G.: Sympathetic cerebral vasoconstriction blocked by adrenergic alpha receptor antagonists. *Stroke*, 4: 30-37, 1973.
- D'ALECY, L.G. y FEIGL, E.O.: Sympathetic control of cerebral blood flow in dogs. *Circ. Res.* 31: 267-283, 1972.
- DE LA LANDE, I.S.; FREWIN, D. y WATERSON, J.G.: The influence of sympathetic innervation on vascular sensitivity to noradrenaline. *Brit. J. Pharmacol.* 31: 82-93, 1967.
- DENN, M.J. y STONE, H.L.: Cholinergic innervation of monkey cerebral vessels. *Brain Res.* 113: 394-399, 1976.
- DESHMUKH, V.D. y HARPER, A.M.: The effect of serotonin on cerebral and extracerebral blood flow with possible implications in migraine. *Acta Neurol. Scand.* 49: 649-658, 1973.

- DOUGLAS, W.W.: Histamine and antihistamines; 5-hydroxytryptamine and antagonists. En: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 5th edn. Ed. por L.S. Goodman and A. Gilman, pp. 590-629, Macmillan Publishing Co., Inc., New York, 1975.
- DUCKLES, S.P.: Neurogenic dilator and constrictor responses of pial arteries in vitro. *Circ. Res.* 44: 482-490, 1979.
- DUCKLES, S.P. y BEVAN, J.A.: Pharmacological characterization of adrenergic receptors of a rabbit cerebral artery in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197: 371-378, 1976.
- DUCKLES, S.P. y BEVAN, J.A.: Responses of small rabbit pial arteries in vitro. *Blood Vessels*, 16: 80-86, 1979.
- DUCKLES, S.P. y RAPOPORT, R.: Release of endogenous norepinephrine from a rabbit cerebral artery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 211: 219-224, 1979.
- ECCLES, J.: The Synapse. En *Physiological Psychology. Readings from Scientific American*. pp. 131-146, W.H. Freeman and Company San Francisco, 1973.
- EDELMAN, N.H.; EPSTEIN, P.; CHERNIACK, N.S. y FISHMAN, A.P.: Control of cerebral blood flow in the goat: role of the carotid rete. *Amer. J. Physiol.* 223: 615-619, 1972.

EDVINSSON, L.: Neurogenic mechanisms in the cerebrovascular bed.

Autonomic nerves, amine receptors and their effect on cerebral blood flow. Acta Physiol. Scand. Suppl. 427: 1-36, 1975.

EDVINSSON, L.; AUBINEAU, P.; OWMAN, C.; SERCOMBE, R. y SEYLAZ, J.:

Sympathetic innervation of cerebral arteries. Prejunctional supersensitivity to norepinephrine of sympathectomy or cocaine treatment. Stroke 6: 525-530, 1975.

EDVINSSON, L.; FALCK, B. y OWMAN, C.: Possibilities for cholinergic nerve action on smooth musculature and sympathetic axons in brain vessels mediated by muscarinic and nicotinic receptors. J. Pharmacol. Exp. Ther. 200: 117-126, 1977a.

EDVINSSON, L. y HARDEBO, J.E.: Characterization of serotonin-receptors in intracranial and extracranial vessels. Acta Physiol. Scand. 97: 523-525, 1976.

EDVINSSON, L.; HARDEBO, J.E.; HARPER, A.M.; McCULLOCH, J. y OWMAN, C.:

Action of dopamine agonist on brain vessels in vitro and after in vivo microapplication. Acta Neurol. Scand. Suppl., 64, 350-351, 1977b.

- EDVINSSON, L.; HARDEBO, J.E.; McCULLOCH, J. y OWMAN, C.: Effects of dopaminergic agonists and antagonists on isolated cerebral blood vessels. *Acta Physiol. Scand.*, 104: 349-359, 1978a.
- EDVINSSON, L.; HARDEBO, J.E. y OWMAN, C.: Pharmacological analysis of 5-hydroxytryptamine receptors in isolated intracranial and extracranial vessels of cat and man. *Circ. Res.*, 42: 143-151, 1978b.
- EDVINSSON, L. y LINDVALL, M.: Autonomic vascular innervation and vasomotor reactivity in the choroid plexus. *Experimental Neurology*, 62: 399-404, 1978.
- EDVINSSON, L. y MCKENZIE, E.T.: Amine mechanisms in the cerebral circulation. *Pharmacol. Rev.* 28: 275-348, 1976.
- EDVINSSON, L.; NIELSEN, K.C.; OWMAN, C. y SPORRONG, B.: Cholinergic mechanisms in pial vessels. Histochemistry electron microscopy and pharmacology. *Z. Zellforsch.*, 134: 311-325, 1972a.
- EDVINSSON, L.; NIELSEN, K.C.; OWMAN, C. y WEST, K.A.: Sympathetic neural influence on norepinephrine vasoconstriction in brain vessels. *Arch. Neurol.* 27: 492-495, 1972b.

- EDVINSSON, L. y OWMAN, C.: Pharmacological characterization of adrenergic alpha and beta receptors mediating vasomotor response of cerebral arteries in vitro. *Circ. Res.* 35: 835-849, 1974.
- EDVINSSON, L. y OWMAN, C.: A Pharmacologic comparison of histamine receptors in isolated extracranial and intracranial arteries in vitro. *Neurology*, 25: 271-276, 1975.
- EDVINSSON, L.; OWMAN, C.; ROSENGREN, E. y WEST, K.A.: Concentration of noradrenaline in pial vessels, choroid plexus, and iris during two weeks after sympathetic ganglionectomy or decentralization. *Acta Physiol. Scand.* 85: 201-206, 1972c.
- EDVINSSON, L.; OWMAN, C. y SJOBERG, N.O.: Autonomic nerves, mast cells, and amine receptors in human brain vessels. A histochemical and pharmacological study. *Brain. Res.* 115: 377-394, 1976.
- ERSPAMER, V.: Pharmacology of indolealkylamines. *Pharmacol. Rev.* 6: 425-287, 1954.
- ERSPAMER, V.: Peripheral physiological and pharmacological actions of indolealkylamines. En: *Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 18. Ed. por O. Eichler, A. Farah. New York, pp. 245-359, Springer-Verlag, 1966.

FALCK, B.; MCHEDLISHVILI, G.I. y OWMAN, C.: Histochemical demonstration of adrenergic nerves in cortex-pia of rabbit. Acta. Pharmacol. Toxicol. 23: 133-142, 1965.

FALCK, B.; NIELSEN, K.C. y OWMAN, C.: Adrenergic innervation of the pial circulation. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 102: suppl., pp. 96-98, 1968.

FILLION, G.M.; LLUCH, S. y UVNAS, B.: Release of noradrenaline from the dog heart in situ after intravenous and intracoronary administration of 5-hydroxytryptamine. Acta Physiol. Scand. 83: 115-123, 1971.

FLEMING, W.W.; WESTFALL, D.P.; DE LA LANDE, I.S. y JELLET, L.B.: Long-normal distribution of equieffective doses of norepinephrine and acetylcholine in several tissues. J. Pharmacol. Exp. Ther. 181: 330-345, 1972.

FOZARD, J.R. y MWALUKO, G.M.P.: Mechanisms of the indirect sympathomimetic effect of 5-hydroxytryptamine on the isolated heart of the rabbit. Br. J. Pharmacol. 57: 115-125, 1976.

FRANK, E.D.; FRANK, H.A.; JACOB, S.; WEITZEL, H.A.E.; KORMAN, H. y FINE, J.: Effect of norepinephrine on circulation of the dog in hemorrhagic shock. Amer. J. Physiol. 186: 74-78, 1956.

- FUNAKI, S. y BOHR, D.F.: Electrical and mechanical activity of isolated vascular smooth muscle of the rat. *Nature*, 203: 192-194, 1964.
- FURCHGOTT, R.F.: Dibenamine blockade in strips of rabbit aorta and its use in differentiating receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 111: 265-284, 1954.
- GADDUM, J.H.: Antagonism between LSD and 5-hydroxytryptamine. *J. Physiol., London.* 121: 15 P, 1953.
- GARATTINI, S. y VALZELLI, L.: Serotonin. New York, Elsevier Publishing Co., 1965.
- GILBERT, J.C. y GOLDBERG, L.I.: Characterization by chyproheptadine of the dopamine-induced contraction in canine isolated arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 193: 435-442, 1975.
- GOLDBERG, L.I.: Cardiovascular and renal actions of dopamine: Potential clinical applications. *Pharmacol. Rev.*, 24: 1-29, 1972.
- GOLDBERG, L.I.: The dopamine vascular receptor. *Biochem. Pharmacol.*, 24: 651-653, 1975.
- GOLDBERG, L.I.; KOHLI, J.D.; KOTAKE, A.N. y VOLKMAN, P.H.: Characteristics of the vascular dopamine receptor: comparison with other receptors. *Federation Proc.* 37: 2396-2402, 1978.

- GOLDBERG, L.I. y TODA, N.: Dopamine induced relaxation of isolated canine renal, mesenteric, and femoral arteries contracted with prostaglandin. $F_{2\alpha}$. Supplement I to Circ. Research. 36: 97-102, 1975.
- GOMEZ, B.; ALBORCH, E.; DIEGUEZ, G. y LLUCH, S.: Presence of alpha and beta adrenergic tone in the walls of cerebral blood vessels. En: The Cerebral Vessel Wall, edited by J. Cervós-Navarro, E. Betz, F. Matakas and R. Wüllenweber, New York: Raven Press, p. 139-142, 1976.
- GOODMAN, L.S. y GILMAN, A.: The pharmacological basis of therapeutics. Fifth Edition. Ed. Macmillan Publishing Co., I.N.C. New York. Pag. 612, 1975.
- GREEN, H.D. y DENISON, A.B. Jr.: Absence of vasomotor responses to epinephrine and arterenol in an isolated intracranial circulation. Circ. Res. 4: 565-573, 1956.
- GRIMSON, B.S.; ROBINSON, S.C.; DANFORD, E.T.; RINDALL, G.T. y GREENFIELD, J.C. Jr.: Effect of serotonin on internal and external carotid artery blood flow in the baboon. Amer. J. Physiol. 216: 50-55, 1969.

- HADDY, F.J.; GORDON, P. y EMANUEL, D.A.: The influence of tone upon responses of small and large vessels to serotonin. *Circ. Res.* 7: 123-130, 1959.
- HADDY, F.J.: Serotonin and the vascular system. *Angiology*, 11: 21-24, 1960.
- HALL, Z.W.: Release of neurotransmitters and their interaction with receptors. *Ann. Rev. Biochem.* 41: 921-952, 1972.
- HAMLIM, K.E. y FISCHER, F.E.: The synthesis of 5-hydroxytryptamine. *J. Am. Chem. Soc.* 73: 5007-5008, 1951.
- HANDA, J.; MEYER, J.S. y YOSHIDA, K.: Regional pharmacologic responses of vertebral and internal carotid arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 152: 251-264, 1968.
- HARIK, S.I.; SHARMA, W.K.; WETHERBEE, J.R.; WARREN, R.H. y BANERJEE, S.P.: Adrenergic receptors of cerebral microvessels. *Europ. J. Pharmacol.* 61: 207-208, 1980.
- HARTMAN, B.K. y UNDEFRIEND, S.: Immunofluorescent localization of dopamine beta-hydroxylase in tissues. *Mol. Pharmacol.* 6: 85-94, 1970.
- HARTMAN, B.K.; ZIDE, D. y UNDEFRIEND, S.: The use of dopamine beta-hydroxylase as a marker for the central noradrenergic nervous system in the rat brain. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 69: 2722-2726, 1972.

- HEISTAD, D.D.; MARCUS, M.L.; SANDBERG, S. y ABBOUD, F.M.: Effect of sympathetic nerve stimulation on cerebral blood flow and on large cerebral arteries of dogs. *Circ. Res.* 41: 342-350, 1977.
- HENRY, D.P.; STARMAN, B.J.; JOHNSON, D.G. y WILLIAMS, R.H.: A sensitive radioenzymatic assay for norepinephrine in tissues and plasma. *Life Sci.* 16: 375-384, 1975.
- HERNANDEZ-PEREZ, M.J. y STONE, H.L.: Sympathetic innervation of the circle of Willis in the macaque monkey. *Brain Res.* 80: 507-511, 1974.
- HIGGINS, C.B.; MILLARD, R.W.; BRAUNWALD, E. y VATWER, S.F.: Effects and mechanisms of action of dopamine on regional hemodynamics in the conscious dog. *Amer. J. Physiol.* 225: 432-437, 1973.
- HÖRFELT, T.; KELLERTH, J.Q.; NILSSON, G. y PERNOW, B.: Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neurons. *Brain. Res.* 100: 235-252, 1975.
- HUBBARD, J.L.: Mechanisms of transmitter release. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 21: 35-124, 1970.

- HUME, W.R.; DE LA LANDE, I.S. y WATERSON, J.G.: Effect of acetylcholine on the response of the isolated rabbit ear artery to stimulation of the perivascular sympathetic nerves. *Eur. J. Pharmac.* 17: 227-233, 1972.
- HUMPHREY, P.P.A.: The effects of alfa - adrenoceptor antagonists on contractile responses to 5-hydroxytryptamine in dog saphenous vein. *Br. J. Pharmac.* 63: 671-675, 1978.
- INNES, I.R.: An action of 5-hydroxytryptamine on adrenaline receptors. *Brit. J. Pharmacol.* 19: 427-441, 1962.
- IVERSEN, L.L.; HORN, A.S. y MILLER, R.J.: Actions of dopaminergic agonists on cyclic AMP production in rat brain, homogenates. *Advan. Neurol.* 5: 197-212, 1975.
- IVERSEN, L.L.: Dopaminergic receptors in the brain. *Science* 188: 1084-1089, 1975.
- IWAYAMA, T.: Ultrastructural changes in the nerves innervating the cerebral artery after sympathectomy. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.* 109: 465-480, 1970.
- IWAYAMA, T.; FURNESS, J.B. y BURNSTOCK, G.: Dual adrenergic and cholinergic innervation of the cerebral arteries of the rat. *Circ. Res.* 26: 635-646, 1970.

- JAMES, I.M.; MILLAR, R.A. y PURVES, M.J.: Observation on the extrinsic neural control of cerebral blood flow in the baboon. *Circ. Res.* 25: 77-93, 1969.
- JARROT, B.; MCQUEN, A.; GRAF, L. y LOUIS, W.J.: Serotonin levels in vascular tissue and the effects of a serotonin synthesis inhibitor on blood pressure in hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Supp.* 2: 201-205, 1975.
- JAUERNIG, R.A. y MOULDS, R.F.W.: A human arterial preparation for studying the effects of vasoactive agents. *Circ. Res.* 42: 363-368, 1978.
- JESTER, J. y HORST, W.D.: Influence of serotonin on adrenergic mechanisms. *Biochem. Pharmacol.* 21: 333-338, 1972.
- KANGASNIEMI, P.; SONNINEN, V. y RINNE, U.K.: Excretion of free and conjugated 5-HIAA and VMA in urine and concentration of 5-HIAA and VMA in CSF during migraine attacks and free intervals. *Headache*, 12: 62-65, 1972.
- KAO, C.Y.: Tetrodotoxin, saxitoxin and their significance in the study of excitation phenomena. *Pharmacol. Rev.* 18: 997-1049, 1966.
- KAPP, J.; MAHLEY, M.S. Jr. y O'DON, G.L.: Cerebral arterial spasm. Parts 1-3. *J. Neurosurg.* 29: 331-356, 1968.

- KEATINGE, W.R.: Electrical and mechanical response of arteries to stimulation of sympathetic nerves. J. Physiol. 185: 701-715, 1966.
- KEBABIAN, J.W. y GREENGARD, P.: Dopamine-sensitive adenylyl cyclase: possible role in synaptic transmission. Science, 174: 1346-1348, 1971.
- KEBABIAN, J.W.; PETZOLD, G.L. y GREEN-GARD, P.: Dopamine-sensitive adenylyl cyclase in caudate nucleus of rat brain, and its similarity to the "Dopamine Receptor". Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.). 69: 2145-2149, 1972.
- KRISHNAMURTY, U.S.R. y GROLLAMN, A.: Contractile response of rat aorta to norepinephrine and tyramine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 182: 264-272, 1972.
- KROG, J.: The effect of cervical sympathetic stimulation on cerebral blood flow in birds. J. Oslo City. Hosp. 13: 201-208, 1963.
- KROG, J.: Autonomic nervous control of the cerebral blood flow in man. J. Oslo City Hosp. 14: 25-33, 1964.
- KURIYAMA, H. y SUZUKI, H.: The effects of acetylcholine on the membrane and contractile properties of smooth muscle cells of the rabbit superior mesenteric artery. Br. J. Pharmac. 64: 493-501, 1978.

- KUSCHINSKY, W. y WAHL, M.: Alpha-receptor stimulation by endogenous and exogenous norepinephrine and blockade by phenolamine in pial arteries of cats. *Circ. Res.*, 37: 168-174, 1975.
- KUSCHINSKY, W. y WAHL, M.: Interactions between perivascular norepinephrine and potassium or osmolarity of pial arteries of cats. *Microvas. Res.*, 14: 173-180, 1977a.
- KUSCHINSKY, W. y WAHL, M.: In vivo evaluation of histamine receptors at pial arteries. *Acta Neurol. Scand. Suppl.*, 64: 382-383, 1977b.
- KUSCHINSKY, W. y WAHL, M.: Local chemical and neurogenic regulation of cerebral vascular resistance. *Physiol. Rev.* 58: 656-689, 1978.
- KUSCHINSKY, W.; WAHL, M. y NEISS, A.: Evidence for cholinergic dilatory receptors in pial arteries of cats. A microapplication study. *Pfluegers Arch.*, 347: 199-208, 1974.
- LAVRENTIEVA, N.B.; MCHEDLISHVILI, G.I. y PLECHKOVA, E.K.: Distribution and activity of cholinesterase in the nervous structures of the pial arteries (a histochemical study). *Buill. EKsp. Biol. Med. (U.S.S.R.)* 64: 110-113, 1968.

- LEE, T.J-F. y BEVAN, J.A.: The effect of nerve stimulation and pharmacological agents on the contractile activity of the isolated basilar artery of the rabbit. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 17: 129-131, 1974.
- LEE, T.J-F.; HUME, W.R.; SU, Ch. y BEVAN, J.A.: Neurogenic vasodilation of cat cerebral arteries. *Circ. Res.* 42: 535-543, 1978.
- LEE, T.J-F.; SU, Ch. y BEVAN, J.A.: Nonsympathetic dilator innervation of cat cerebral arteries. *Experientia*, 31: 1424-1425, 1975.
- LEE, T.J-F.; SU, Ch. y BEVAN, J.A.: Neurogenic sympathetic vasoconstriction of the rabbit basilar artery. *Circ. Res.* 39: 120-126, 1976.
- LINDVALL, M.; CERVOS-NAVARRO, J.; EDVINSSON, L.; OWMAN, C. y STENEVI, U.: Non-sympathetic perivascular nerves in the brain. Origin and mode of innervation studied by fluorescence and electron microscopy combined with stereotaxic lesions and sympathectomy. En: *Blood Flow and Metabolism in the brain*, edited by A.M. Harper, W.B. Jennett, J.D. Miller and J.O. Rowan. Edinburg: Churchill Livingstone, p. 1.7-1.9, 1975.

- LLUCH, S.; GOMEZ, B.; ALBORCH, E. y URQUILLA, O.R.: Adrenergic mechanisms in cerebral circulation of the goat. *Am. J. Physiol.* 228: 985-989, 1975.
- LLUCH, S.; DIEGUEZ, G.; ALBORCH, E.; RUIZ, M.C. y GOMEZ, B.: Direct and indirect effects of 5-hydroxytryptamine on cerebral blood vessels. En: *The cerebral vessel wall*. Ed. por J. Cervós-Navarro, F. Matakas, and R. Wüllenweber, pp. 135-138, Raven Press, New York, 1976.
- LLUCH, S.; REIMANN, C. y GLICK, G.: Evidence for the direct effect of adrenergic drugs on the cerebral vascular bed of the unanesthetized goat. *Stroke*, 4: 50-56, 1973.
- LOWE, R.F. y GILBOE, D.D.: Demonstration of alpha and beta adrenergic receptors in canine cerebral vasculature. *Stroke*, 2: 193-200, 1971.
- LOWE, R.F. y GILBOE, D.D.: Canine cerebrovascular responses to nitroglycerin, acetylcholine, 5-hydroxytryptamine, and angiotensin. *Amer. J. Physiol.* 225: 1333-1338, 1973.
- MACKENZIE, E.T.; PICKARD, J.D. y HARDEBO, J.E.: Blood-brain barrier, amines and the cerebral circulation. Problems and approaches. En: *Neurogenic control of the brain circulation*. Ed. por C. Owman and L. Edvinsson, pp. 231-243, Oxford, Pergamon Press, 1977.

- MALIK, K.U. y LING, G.M.: Modification by acetylcholine of the response of rat mesenteric arteries to sympathetic stimulation. *Circulation Res.*, 25: 1-9, 1969.
- MARIN, J.: Mecanismos de acción de la serotonina en arterias cerebrales de gato y cabra. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid, 1979.
- MARIN, J. y SALAICES, M.: Drug-induced contractile responses in the isolated posterior communicating cerebral artery of the cat. *Rev. esp. Fisiol.* 34: 67-70, 1978.
- MARIN, J.; SALAICES, M.; MARCO, E.J.; GOMEZ, B. y LLUCH, S.: Analysis of the contractile effect of 5-hydroxytryptamine on the isolated posterior communicating artery of the cat. *J. Pharm. Pharmacol.* 31: 456-459, 1979.
- MARIN, J.; SALAICES, M.; RIVILLA, F.; BURGOS, J. y MARCO, E.J.: Bilateral innervation of the cat cerebral arteries by the superior cervical ganglia. *J. Neurosurg.* 00: 000-000, 1980.
- MARIN, J. y SANCHEZ, C.F.: Release of noradrenalina from cat cerebral arteries by different drugs and potassium. *Biochem. Pharmacol.*, 29: 840-842, 1980a.

MARIN, J. y SANCHEZ, C.F.: Influence of calcium on noradrenaline release evoked by serotonin tyramine and potassium from goat pial arteries. J. Pharm. Pharmacol. (en prensa), 1980b.

MATSUDA, M.; MEYER, J.S.; DESHMUKH, V.D. y TAGASHIRA, Y.: Effect of acetylcholine on cerebral circulation. J. Neurosurg. 45: 423-431, 1976.

McCLURE, C. y GREEN, H.D.: Cerebral venous outflow in the dog: influence of adrenergic and cholinergic substances. Am. J. Physiol. 197: 1183-1190, 1959.

McGRATH, M.A.: 5-hydroxytryptamine and neurotransmitter release in canine blood vessels. Inhibition by low and augmentation by high concentrations. 41: 428-435, 1977.

McNAY, J.L. y GOLDBERG, L.J.: Comparison of the effects of dopamine, isoproterenol, norepinephrine and bradykinin on cocaine renal and femoral blood flow. J. Pharmacol. exp. Ther. 151: 23-31, 1966.

MEYER, J.S.; LAVY, S.; ISHIKAWA, S. y SYMON, L.: Effect of drugs and brain metabolism on internal carotid arterial flow. Amer. J. Med. Electron. 3: 169-180, 1964.

- MILNOR, W.R.: Autonomic and peripheral control mechanisms. En Medical Physiology. 30 edición. Ed. by Vernon, B. Mountcastle, 1974.
- MOSKOWITZ, M.A.; REINARD, J.F. Jr. y LIEBMAN, J.: Biochemical evidence for serotonergic innervation of rat cerebral microvessels and choroid plexus. 7th Internat. Congress. Pharmacol., Pergamon Press, pág. 235., 1978.
- MURAMATSU, I.; RUJIWARA, M.; OSUMI, Y. y SHIBATA, S.: Vasoconstrictor and dilator actions of nicotine and electrical transmural stimulation on isolated dog cerebral arteries. Blood Vessels 15: 110-118, 1978.
- NAKAJIMA, A. y HOPKINS, L.: Electrical activity of single vascular smooth muscle fibers. Am. J. Physiol. 213: 25-30, 1967.
- NELSON, E. y RENNELS, M.: Innervation of intracranial arteries. Brain. 93: 475-490, 1970.
- NIELSEN, K.C. y OWMAN, C.: Adrenergic innervation of pial arteries related to the circle of Willis of the cat. Brain Res. 6: 773-776, 1967.
- NIELSEN, K.C. y OWMAN, C.: Contractile response and amine receptor mechanisms in isolated middle cerebral artery of the cat. Brain Res. 27: 33-42, 1971.

- O'BRIEN, R.D.; ELDEFRAWI, M.E. y ELDEFRAWI, A.T.: Isolation of acetylcholine receptors. *Ann. Rev. Pharmacol.* 12: 19-34, 1972.
- OLENDORF, H.H.: Brain uptake of radiolabeled amino acids, amines and hexoses after arterias injection. *Amer. J. Physiol.*, 221: 1629-1639, 1971.
- OLESEN, J.: The effect of intracarotid epinephrine, norepinephrine and angiotensin on the regional cerebral blood flow in man. *Neurology* 22: 978-987, 1972.
- OLESEN, J. y SKINHØJ, E.: The influence of certain vasoactive amines on the regional cerebral blood flow in man. *Proceedings of the International Headache Symposium, Elsinore, Denmark, May, 16-18, 1971. Basel, Sandoz, pp. 145-152, 1971.*
- OLSEN, R.; MEUNIER, J.C.; WEBER, H. y CHANGEUY, J.P.: Characterisation, isolation and purification of the cholinergic receptor protein from *Electrophorus electricus* organ. *Proc. 8th. FEBS Meeting* 28: 317-326, 1972.
- O'NEILL, J.T. y TRAYSTMAN, R.J.: Adrenergic receptors in the intra and extracranial vasculature. En: *Neurogenic control of the brain circulation*. Ed. C.Owman y L. Edvinsson (Pergamon Press, Oxford) p. 245-260, 1977.

- OSTERHOLM, J.L.; BELL, J.; MEYER, R. y PYENSON, J.: Experimental effects of free serotonin on the brain and its relation to brain injury. *J. Neurosurg.* 31: 408-421, 1969.
- OWMAN, Ch.; EDVINSSON, L.; FALCK, B. y NIELSEN, K.C.: Amine mechanisms in brain vessels, with particular regard to autonomic innervation and blood-brain barrier. En: *Pathology of Cerebral Microcirculation*, edited by J. Cervós-Navarro. Berlín: Walter de Gruyter, p. 184-199, 1974.
- OWMAN, Ch. y EDVINSSON, L.: Autonomic neuroreceptor mechanisms in brain vessels. *Blood Vessels* 11: 2-31, 1974.
- OWMAN, Ch. y EDVINSSON, L.: Histochemical and pharmacological approach to the investigation of neurotransmitters, with particular regard to the cerebrovascular bed. En: *Neurogenic control of Brain Circulation*, edited by Ch. Owman and L. Edvinsson. Oxford: Pergamon Press, p. 15-38, 1977.
- PEASE, D.C. y MOLINARI, S.: Electron microscopy of muscular arteries: pial vessels of the cat and monkey. *J. Ultrastruct. Res.* 3: 447-468, 1960.
- PEERLESS, S.J. y YASARGIL, M.G.: Adrenergic innervation of the cerebral blood vessels in the rabbit. *J. Neurosurg.* 35: 148-154, 1971.

- PENDLETON, R.G. y SETLER, P.E.: Peripheral cardiovascular dopamine receptors. *Gen. Pharmacol.* 8: 1-5, 1977
- PENFIELD, W.: Intracerebral vascular nerves. *Arch. Neurol. Psychiat. Chicago*, 27: 30-44, 1932.
- PLUCHINO, S.: Direct and indirect effects of 5-hydroxytryptamine and tyramine on cat smooth muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 272: 189-224, 1972.
- POLITOFF, A. y MACRI, I.: Pharmacologic differences between isolated perfused arteries of the choroid plexus and of the brain parenchyma. *Int. J. Neuropharmacol.* 5: 155-162, 1966.
- PURVES, M.J.: The physiology of the cerebral circulation. University Press, Cambridge, 1972.
- PURVES, M.J.: Do vasomotor nerves significantly regulate cerebral blood flow?. *Circ. Res.* 43: 485-493, 1978.
- RAND, M.J. y VARMA, B.: The effects of cholinomimetic drugs on responses to sympathetic nerve stimulation and noradrenaline in the rabbit ear artery. *Br. J. Pharmac.* 38: 758-770, 1970.
- RAYNOR, R.B. y McMURTY, J.G.: Prevention of serotonin-produced cerebral vasospasm. *Neurology* 13: 94-96, 1963.

- RAYNOR, R.B.; MCHURTY, J.G. y POOL, J.L.: Cerebrovascular effects of topically applied serotonin in the cat. *Neurology* 11: 190-195, 1961.
- REINHARD, J.F.; LIEBMANN, J.E.; SCHLOSBERG, A.J. y MOSKOWITZ, M.A.: Serotonin neurons project to small blood vessels in the brain. *Science* 206: 85-87, 1979.
- REIVICH, M.: Cerebral circulation. En: *Cardiac and Vascular Diseases*. Ed. por H.L., Jr. Conn and O. Horwitz, pp. 139-165, Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 1971.
- RICE, A.J. y LON, G.: An unusual venoconstriction induced by a acetylcholine. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 181: 423-429, 1966.
- RICHARDSON, P.D.I. y WITHRINGTON, P.G.: Alpha and beta adrenoceptors in the hepatic portal venous vascular bed of the dog. *Brit. J. Pharmacol.* 62: 376-377, 1978.
- RONNBERG, A.L.; EDVINSSON, L.; LARSSON, L.I.; NIELSEN, K.C. y OWMAN, Ch.: Regional variation in the presence of mast cells in the mammalian brain. *Agents Action.* 3: 191-192, 1973.
- ROSENBLUM, W.I.: Increased binding of norepinephrine by nerves to cerebral blood vessels: Evidence from the effects of reserpine on nerves to cerebral and extracerebral blood vessels. *Stroke* 4: 42-45, 1973.

- ROSEMBLUM, W.I.: The richness of sympathetic innervation. A comparison of cerebral and extracerebral blood vessels. *Stroke* 7: 270-271, 1976a.
- ROSEMBLUM, W.I.: Pial arteriolar responses in mouse brain revisited. *Stroke*, 7: 283-287, 1976b.
- SALAICES, M.; MARIN, J. y SANCHEZ, C.F.: Noradrenaline release from cat pial arteries induced by different agents: Influence of extracellular calcium, En: *Circulation Cérébrale*. Ed. A. Bés y G. Gérard (Fournié, Toulouse), pag. 43, 1980.
- SAMARASINGHE, D.D.: The innervation of the cerebral arteries in the rat: an electron microscope study. *J. Anat.* 99: 815-828, 1965.
- SCHUELKE, D.M.; MARK, A.L.; SCHMID, P.G. y ECKSTEIN, J.W.: Coronary vasodilation produced by dopamine after adrenergic blockade. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 176: 320-327, 1971.
- SCHILD, H.O.: pA, a new scale for the measurement of drugs antagonism. *Brit. J. Pharmacol.* 2: 189, 1947.
- SCHILD, H.O.: The use of drug antagonists for the identification and classification of drugs. *Brit. J. Pharmacol.* 2: 251-258, 1947.

- SERCOMBE, R.; AUBINEAU, P.; EDVINSSON, L.; MAMO, H.; OWMAN, Ch.;
PINARD, E. y SEYLAZ, J.: Neurogenic influence on local
cerebral blood flow: effect of catecholamines or sympathe-
tic stimulation as correlated with the sympathetic inner-
vation. *Neurology* 25: 954-963, 1975.
- SERCOMBE, R.; AUBINEAU, P.; EDVINSSON, L.; MAMO, H.; OWMAN, Ch.
y SEYLAZ, J.: Pharmacological evidence in vitro and in
vivo for functional beta₁ receptors in the cerebral cir-
culation. *Pflugers Arch.* 368: 241-244, 1977.
- SERCOMBE, R.; AUBINEAU, P.; EDVINSSON, L.; MAMO, H.; OWMAN, Ch.;
PINARD, E. y SEYLAZ, J.: Neurogenic influence on local
cerebral blood flow. *Neurology* 25: 954-963, 1975.
- SHEPHERD, J.T.; LORENZ, R.R.; TYCE, G.M. y VANHOUTTE, P.M.: Ace-
tylcholine inhibition of transmitter release from adrener-
gic nerve terminals mediated by muscarinic receptors. *Fede-*
ration Proc. 37: 191-194, 1978.
- SHIBATA, S.: The effect of drug on the autonomic neuroeffector
system of cerebral arteries. En: *Factors Influencing Vas-*
cular Reactivity. Ed. Carrier and Shibata. Igaky-Shoin.
Tokyo. New York, pp. 132-151, 1977.
- SHIBATA, S.; CHENG, J.B. y MURAKAMI, W.: Reactivity of isolated
human cerebral arteries to biogenic amines. *Blood Vessels*.
14: 356-365, 1977.

- SICUTERI, F.; ANSELMi, B. y DEL BIACO, P.L.: 5-Hydroxytryptamine supersensitivity as a new theory of headache and central pain: A clinical pharmacological approach with p-chloro-phenylalanine. *Psychopharmacologia* 29: 347-356, 1973.
- SJAASTAD, O.: Significance of blood serotonin levels in migraine. *Acta neurol. Scand.* 51: 200-210, 1975.
- SMITH, A.D.: Subcellular localization of noradrenaline in sympathetic neurons. *Pharmacol. Rev.* 24: 435-457, 1972.
- SNEDECOR, G.W. y COHRAN, W.G.: Statistical methods. 6th edn. Ames. The IOWA State University Press. IOWA, S.U.A., 1967.
- SNYDER, S.H. y TAYLOR, K.M.: Histamine in the brain: a neurotransmitter. In *Perspectives in Neuropharmacology*. ed. by S.H. Snyder. Oxford, University Press, New York (London) Toronto p. 44-72, 1972.
- SOKOLOFF, L. y KETY, S.S.: Regulation of the cerebral circulation. *Physiol. Rev.* 40 (Supple. 4): 38-43, 1960.
- SOMLYO, A.P. y SOMLYO, A.V.: Vascular smooth muscle. II. Pharmacology of normal and hypertensive vessels. *Pharmacol. Rev.* 22: 249-353, 1970.

- SPECTOR, S.; BAIRD-LAMBERT, J. y LAI, F.M.: Disposition of norepinephrine in isolated brain microvessels. En: Neurogenic control of the brain Circulation. Ed. por C. Owman and L. Edvinsson, pp. 115-120, Pergamon Press, Oxford, 1977.
- SPIRA, P.J.; MYLECHARANE, E.J. y LANCE, J.W.: The effects of humoral agents and antimigraine drugs on the cranial circulation of the monkey. Res. Clin. Stud. Headache. 4: 37-75, 1976.
- STEINSLAND, O.S.; FURCHGOTT, R.F. y KIRPEKAR, S.M.: Inhibition of adrenergic neurotransmission by parasympathomimetics in the rabbit ear artery. J. Pharmacol. Exp. Ther. 184: 346-356, 1973.
- STEPHENSON, R.P.: A modification of receptor theory. Brit. J. Pharmacol. 11: 379-393, 1956.
- SU, C. y BEVAN, J.A.: The electrical response of pulmonary artery muscle to acetylcholine, histamine and serotonin. Life Sci., 4: 1025-1029, 1965.
- SUNDT, T.M., Jr. y WINKELMANN, R.K.: Humoral responses of smooth muscle from rabbit subarachnoid artery compared to kidney mesentery, lungs, heart and skin vascular smooth muscle. Stroke 3: 717-725, 1972.
- SUNDT, T.M., Jr. y ONOFRIO, B.M.: Clinical experience in the management of cerebral vasospasm using intravenous isoproterenol and lidocaine hydrochloride, en: Cerebral Circulation and Metabolism. pág. 343-346 (Springer-Verlag, New York), 1975.

- SVENDGAARD, N. Aa; EDVINSSON, L.; OLIN, T.; OHMAN, C. y SHALIN, C.: On the pathophysiology of cerebral vasospasm transmitter changes in perivascular sympathetic nerves, and increased pial artery sensitivity to norepinephrine and serotonin. En: Neurogenic Control of the Brain Circulation. Ed. por C. Owman and L. Edvinsson, pp. 143-152, Pergamon-Press, Oxford, 1977.
- THOMPSON, J.W.: Studies on the responses of the isolated nictitating membrane of the cat. J. Physiol. 141: 46-72, 1958.
- THRON, C.D. y WAUD, D.R.: The rate of action of atropine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 160: 91-105, 1968.
- TINDALL, G.T. y GREENFIELD, J.C.: The effects of intra-arterial histamine on blood flow in the internal and external carotid artery of man. Stroke 4: 46-49, 1973.
- TODA, N.: The action of vasodilating drugs on isolated basilar, coronary and mesenteric arteries of the dog. J. Pharmacol. Exp. Ther., 191: 139-146, 1974.
- TODA, N.: Influence of dopamine and noradrenaline on isolated cerebral arteries of the dog. Br. J. Pharmacol., 58: 121-126, 1976.

- TODA, N.: Acetylcholine-induced relaxation in isolated dog cerebral arteries. J. Pharmacol. Exp. Ther. 209: 352-358, 1979.
- TODA, N. y FUJITA, Y.: Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. Circ. Res., 33: 98-104, 1973.
- TODA, N.; HAYASHI, S. y HATTORI, K.: Analysis of the effect of tyramine and norepinephrine in isolated canine cerebral and mesenteric arteries. J. Pharmacol. Exp. Ther. 205: 382-391, 1978.
- TODA, N.; HOJO, M.; SAKAE, K. y USUI, H.: Comparison of the relaxing effect of dopamine with that of adenosine, isoproterenol and acetylcholine in isolated canine coronary arteries. Blood Vessels. 12: 290-301, 1975.
- TRENDELENBURG, U.: The action of histamine and 5-hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. J. Pharmacol. Exp. Ther. 130: 450-460, 1960.
- TRENDELENBURG, U.: Modification of the effect of tyramine by various agents and procedures. J. Pharmacol. Exp. Ther. 134: 8-17, 1961.
- TRIGGLE, D.J.: Adrenergic receptors. Ann. Rev. Pharmacol. 12: 185-196, 1972.

THAROG, B.M. y PAGE, I.H.: Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. Am. J. Physiol. 175: 157-161, 1953.

UNGERSTEDT, U.: Stereotoxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. Acta Physiol. Scand. Supply 367: 1-48, 1971.

URQUILLA, P.R.; MARCO, E.J.; BALFAGON, G. y LLUCH, S.: Adrenergic mechanism in cerebral blood vessels: Effect of tyramine on the isolated middle cerebral artery of the goat. Stroke, 5: 447-452, 1974.

URQUILLA, P.R.; MARCO, E.J. y LLUCH, S.: Pharmacological receptors of the cerebral arteries of the goat. Blood vessels 12: 53-67, 1975.

VANHOUTTE, P.M.: Inhibition by acetylcholine of adrenergic transmission in vascular smooth muscle. En: Physiology of Smooth Muscle ed. Bulbring, E. y Suba, M.F. pp. 369-377, New York, Raven Press, 1976.

VANHOUTTE, P.M.; LORENZ, R.R. y TYCE, G.M.: Inhibition of norepinephrine-³H-release from sympathetic nerve ending in veins by acetylcholine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 185: 386-394, 1973.

- VANHOUTTE, P.M. y SHEPHERD, J.T.: Venous relaxation caused by acetylcholine acting on the sympathetic nerves. *Cir. Res.* 32: 259-267, 1973.
- VAZQUEZ, J. y PURVES, M.J.: The cholinergic pathway to cerebral blood vessels. *Pflugers Arch.* 379: 157-163, 1979.
- VON ESSEN, C.: Effects of dopamine on the cerebral blood flow in the dog. *Acta Neurol. Scand.* 50: 39-52, 1974.
- VON ESSEN, C. y ROOS, B.E.: Further evidence for the existence of specific dopamine receptors in the cerebral blood flow in the dog. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 35: 433-435, 1974.
- WAHL, M. y KUSCHINSKY, W.: Autonomic receptors as studied in pial vessels microapplication in situ. En: *Neurogenic control of the brain circulation. Proceeding of the International Symposium held in Stockholm.* Edited. by C. Owman and L. Edvinsson, Pergamon Press. Oxford, 1977.
- WAHL, M.; KUSCHINSKY, W.; BOSSE, O.; OLESEN, J.; LASSEN, N.A.; INGVAR, D.H.; MICHAELIS, J. y THURAU, K.: Effect of l-norepinephrine in the diameter of pial arterioles and arteries in the cat. *Circ. Res.*, 31: 248-256, 1972b.

- WAHL, M.; KUSCHINSKY, W.; BOSSE, O.; OLESEN, J.; LASSEN, N.A.;
INGVAR, D.H. y THURAU, K.: Adrenergic control of cerebral vascular resistance. A micropuncture study. En: Cerebral Blood Flow and Intracranial Pressure. Ed by C. Fieschi, págs. 185-189, Basel, Karger, 1972a.
- WALLES, B.; EDVINSSON, L.; ÖNNMAN, Ch. y SJOBERG, N.O.: Cholinergic nerves and receptors mediating contraction of the Graafian follicle. Biol. Reprod. 1976.
- WATTERS, J.W.: The effects of bradykinin and histamine on cerebral arteries of monkeys. Radiology 98: 229-304, 1971.
- WELCH, K.M.A.; MEYER, J.S.; TERAU, T.; HASHI, K. y SHINMARU, S.: Ischemic anoxia and cerebral serotonin levels. J. Neurol. Sci. 16: 85-92, 1972.
- WILLIS, T.: Cerebri anatome. Martini & Allestry. London, 1664.
- YASHON, D.; BLOCKER, D.; BROWN, R.J. y HUNT, W.E.: Quantitative in vitro vasoactivity of 5-hydroxytryptamine on the human basilar artery. Surg. Neurol. 3: 295-300, 1975.
- YEH, B.K.; McNAY, J.L. y GOLDBERG, L.I.: Attenuation of dopamine renal and mesenteric vasodilatation by haloperidol evidence for a specific receptor. J. Pharmacol. Exp. Ther. 168: 303, 1969.

